

JUDSON FONSECA QUINTÃO JÚNIOR

**CARACTERÍSTICAS DAS SPARKS ESPONTÂNEAS DE Ca^{2+} EM
CARDIOMIÓCITOS DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS
SUBMETIDOS AO TREINAMENTO E AO DESTREINAMENTO FÍSICO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Educação Física, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2012

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

Q7c
2012

Quintão Júnior, Judson Fonseca, 1982-
Características das Sparks espontâneas de Ca^{2+} em
cardiomiócitos de ratos espontaneamente hipertensos
submetidos ao treinamento e ao destreinamento físico /
Judson Fonseca Quintão Júnior. – Viçosa, MG, 2012.
xi, 81f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Inclui anexos.

Orientador: Thales Nicolau Primola Gomes.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 66-76.

1. Exercícios físicos - Aspectos fisiológicos.
 2. Hipertensão. 3. Coração. 4. Patologia celular.
- I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 612.044

JUDSON FONSECA QUINTÃO JÚNIOR

**CARACTERÍSTICAS DAS SPARKS ESPONTÂNEAS DE Ca^{2+} EM
CARDIOMIÓCITOS DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS
SUBMETIDOS AO TREINAMENTO E AO DESTREINAMENTO FÍSICO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Educação Física, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 16 de março de 2012.

Jader dos Santos Cruz

Leonardo Bonato Felix
(Coorientador)

Thales Nicolau Primola Gomes
(Orientador)

À minha mãe, pelo exemplo de vida e ensinamentos.

À Fabiana, Nanci, Marina, Larissa e Allan.

À minha namorada Natália.

À todos meus familiares.

À memória do meu Pai, Avós e tia Graça.

Aos meus queridos amigos do BIOEX

Aos animais experimentais

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por iluminar meus caminhos e me dar saúde e força nos momentos difíceis para continuar buscando meus ideais e objetivos.

À minha mãe Rosalina, minha irmã Fabiana, minha tia Nanci, minhas sobrinhas Marina e Larissa, meu cunhado Allan e minha namorada Natália, pela amizade, cumplicidade, por todo amor incondicional. Vocês são a minha fonte de inspiração para seguir sempre em busca dos meus sonhos. Obrigado pelo apoio e doação incondicional. Todas as minhas conquistas são por vocês e para vocês. Amo todos vocês!

À todos os meus familiares, tios e primos, em especial minha avó “Caçuleta”, pelas orações e pelo carinho comigo. Vocês são a melhor família do mundo.

Aos meus avós João Barbosa e Antônia, tios e primos, minha segunda família, obrigado pelo carinho e por estarem comigo sempre.

Ao professor e orientador Antônio José Natali, por ser um espelho de profissional para mim, pelos ensinamentos, competência, humildade, e por me aturar todos estes anos e acima de tudo pela amizade.

Ao meu amigo e orientador professor Thales Nicolau Prímola Gomes, pela paciência, dedicação, competência, e pela excelente orientação.

Ao meu grande amigo Miguel, pela amizade verdadeira, pelos conselhos sempre pontuais, pelos desabafos, pelas gargalhadas e palhaçadas, pelos momentos de trabalho, pelas partidas de futebol, pelas festas, pela persistência principalmente nos momentos difíceis onde batia aquela vontade de desistir e você sempre tinha uma palavra amiga e sábia.

Aos grandes amigos Lucas, Victor, Karina, Cynthia, Matheus Ornelas, Pedro Natali, Marcinha, Bárbara, Juliana e Bozi pelos momentos felizes, pela cumplicidade no trabalho, pelos conselhos, pelas brincadeiras que sempre descontraíam, pelas festas e pela boa vontade constante.

Aos amigos Mateus “pinguinha”, Felipe, Felipinho, Regiane, Aurora, Luciano, Elton, Gilton, Guto Cabral, Edson, Angela, Natália, Andresa, Érica, Dolores, Ana Paula, Mayra, Arlete, Paula, Alessandro, Bruno, Suzana, Silvio e Frederico, pela boa convivência e bons momentos de trabalho e lazer.

Aos professores e funcionários do departamento de Educação Física da UFV, pelos ensinamentos e boa convivência.

Aos professores Jader dos Santos Cruz e Leonardo Bonato Felix pela honrosa participação em meu seminário de defesa de dissertação e pelo apoio constante ao Departamento de Educação Física e ao BIOEX.

Aos meus amigos da turma de graduação “EFI 2005”, pela amizade verdadeira.

Aos grandes amigos Herbert Paixão, Aline Pasqualon e Flávia Drumond pela honra de ter vocês como amigos.

Aos amigos Leidinha, Conceição Telles, Aninha Marques e Eurico, pela amizade e carinho comigo e com meus familiares.

Aos grandes amigos da “república dos Patos” Serginho, Tiago, Mateus, dona Marta e Jerber Jr., e em especial, Marcelo e Danilo, por todos os anos de convivência aqui em Viçosa, que foram com certeza os melhores da minha vida.

À CAPES, pelo auxílio financeiro.

Enfim, a todos que de alguma forma estiveram comigo nesta caminhada.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	vi
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	16
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
3.1 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO E TRATAMENTOS.....	17
3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	17
3.3 CONTROLE DA PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA.....	18
3.4 PROGRAMA DE TREINAMENTO FÍSICO E DESTREINAMENTO.....	18
3.5 PESO DO CORAÇÃO E DOS VENTRÍCULOS.....	20
3.6 ISOLAMENTO DOS CARDIOMIÓCITOS.....	20
3.7 SOLUÇÕES DE ISOLAMENTO.....	22
3.8 SOLUÇÃO TAMPÃO HEPES.....	22
3.9 MEDIDA E ANÁLISE DAS SPARKS ESPONTÂNEAS DE Ca ²⁺	23
3.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	25
4. RESULTADOS.....	26
4.1 PESO CORPORAL, PESO DO CORAÇÃO E PESO DOS VENTRÍCULOS.....	26
4.2 PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA, FREQUÊNCIA CARDÍACA DE REPOUSO E TEMPO TOTAL ATÉ A FADIGA.....	28
4.3 SPARKS ESPONTÂNEAS DE Ca ²⁺	29
4.3.1 FREQUÊNCIA DAS SPARKS ESPONTÂNEAS DE Ca ²⁺	31
4.3.2 AMPLITUDE DAS SPARKS.....	33
4.3.3 LARGURA TOTAL DA SPARK NA METADE DA AMPLITUDE MÁXIMA- FWHM.	35
4.3.4 DURAÇÃO TOTAL DA SPARK NA METADE DA AMPLITUDE MÁXIMA- FDHM.	38
4.3.5 LARGURA TOTAL DAS SPARKS.....	41
4.3.6 DURAÇÃO TOTAL DAS SPARKS.....	43
4.3.7 TEMPO ATÉ O PICO DA SPARK (T_{pico}).....	46
4.3.8 INCLINAÇÃO MÁXIMA DA FASE ASCENDENTE DA SPARK (I_{max}).....	49
4.3.9 CONSTANTE DE TEMPO DE DECAIMENTO DAS SPARKS (τ).....	51
5. DISCUSSÃO.....	55
6. CONCLUSÕES.....	65
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
8. ANEXOS.....	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AEC	- Acoplamento excitação-contração.
ANOVA	- Análise de variância.
ATPase	- Enzimas que catalisam a hidrólise do ATP (adenosina trifosfato) para produção de energia.
AMP	- Adenosina monofosfato
aMLC ₁	- Proteína miosina atrial de cadeia leve.
Ca ²⁺	- Cálcio.
[Ca ²⁺] _{RS}	- Concentração de Ca ²⁺ no RS.
CaCl ₂	- Cloreto de cálcio.
CaMKII	- Proteína cinase II dependente da via Ca ²⁺ /calmodulina
CASQ2	- Calsequestrina
DHPR	- Receptores de diidropiridina.
DMSO	- Dimetil-sulfóxido.
END	- Região do subendocárdio do ventrículo esquerdo.
EPI	- Região do subepicárdio do ventrículo esquerdo.
EGTA	- <i>Ethylene glycol-bis (β-aminoethyl ether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid</i>
FDHM	- Duração total da <i>spark</i> na metade da amplitude máxima.
FK506	- Proteína de ligação a Tacrolimo.
FKBP12.6	- FK506 binding protein, 12.6
Fluo-4 AM	- Fluo-4 acetoximetil-ester.
FWHM	- Largura total da <i>spark</i> na metade da amplitude máxima.
GABA	- Ácido gama-aminobutírico.
HAS	- Hipertensão arterial sistêmica.
HS	- Grupo hipertenso sedentário.
HT	- Grupo hipertenso treinado.
HSD	- Grupo hipertenso sedentário por 12 semanas.
HD	- Grupo hipertenso destreinado.
HEPES	- <i>N-2-hydroxyethylpiperazine-N-2-ethanesulfonic acid</i> .
I_{CaL}	- Corrente de Ca ²⁺ (pelo canal do tipo L).
I_{Tl}	- Corrente transitória de influxo.
I_{K+}	- Corrente de potássio.
I_{max}	- Inclinação máxima da fase ascendente da <i>spark</i> - ($\Delta F/F_0/s$)
KCl	- Cloreto de potássio.
mAKAP	- Proteína cinase A de ancoragem.
MgCl ₂	- Cloreto de magnésio.
MgSO ₄	- Sulfato de magnésio.
NaCl	- Cloreto de sódio.
NaH ₂ PO ₄	- Dihidrogenofosfato de sódio.
NCX	- Trocador sódio-cálcio.
NS	- Grupo normotenso sedentário.
NT	- Grupo normotenso treinado.

NSD	- Grupo normotenso sedentário por 12 semanas.
ND	- Grupo normotenso destreinado.
O ₂	- Oxigênio.
PA	- Potencial de ação cardíaco.
PLB	- Fosfolambana.
PKA	- Proteína cinase A.
PKC	- Proteína cinase C.
PP1	- Proteína fosfatase 1.
PP2A	- Proteína fosfatase 2A.
pH	- Potencial hidrogeniônico.
RyR	- Receptor de rianodina.
RyR2	- Receptor de rianodina do tipo 2.
RS	- Retículo sarcoplasmático.
SERCA2a	- Ca ²⁺ -ATPase do retículo sarcoplasmático.
Ser ²⁸⁰⁸	- Resíduo de serina 2808.
Ser ²⁸¹⁴	- Resíduo de serina 2814.
SHR	- <i>Spontaneously Hypertensive Rat</i> .
τ	- Constante de tempo para o decaimento da <i>spark</i> .
T _{pico}	- Tempo até o pico da <i>spark</i> .
Túbulos-T	- Túbulos transversos.
TTF	- Tempo total de exercício até a fadiga.
VE	- Ventrículo esquerdo.
VD	- Ventrículo direito.
VMC	- Velocidade máxima de corrida.
VO _{2max}	- Consumo máximo de oxigênio.
WKY	- Ratos da linhagem Wistar Kyoto.

RESUMO

QUINTÃO JÚNIOR, Judson Fonseca, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2012. **Características das sparks espontâneas de Ca^{2+} em cardiomiócitos de ratos espontaneamente hipertensos submetidos ao treinamento e ao destreinamento físico.** Orientador: Thales Nicolau Primola Gomes. Coorientadores: Antônio José Natali e Leonardo Bonato Felix.

O objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos do treinamento e do destreinamento físicos sobre as características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} , em cardiomiócitos de ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Ratos SHR e Wistar normotensos com 16 semanas de idade, peso inicial de $357,5 \pm 4,0$ g (SHR) e $385,2 \pm 6,6$ g (Wistar), foram separados aleatoriamente em 8 grupos: hipertenso sedentário (HS); hipertenso treinado (HT); normotenso sedentário (NS); normotenso treinado (NT); hipertenso sedentário por 12 semanas (HSD); hipertenso destreinado (HD); normotenso sedentário por 12 semanas (NSD); normotenso destreinado (ND). Os animais dos grupos (HT, NT, HD e ND) foram submetidos a um programa de treinamento de corrida, 5 dias por semana, 1h por dia, numa intensidade de 60-70% da velocidade máxima de corrida, durante 8 semanas. Os animais dos grupos HD e ND permaneceram sem exercícios físicos por 4 semanas após a 8ª semana de treinamento. Após a eutanásia, cardiomiócitos das regiões do sub epicárdio (EPI) e do sub endocárdio (END) do ventrículo esquerdo e do ventrículo direito (VD) foram isolados por dispersão enzimática. As medidas das *sparks* foram feitas por meio de um microscópio confocal. As análises da amplitude, frequência, FWHM, FDHM, T_{pico} , I_{max} e τ das *sparks* foram feitas por meio do programa *SparkMaster*. Para as análises estatísticas foram usados os testes Kolmogorov-Smirnov, Shapiro-Wilk, Kruskal-Wallis e ANOVA *two-way* com teste *post-hoc* de Tukey. O nível de significância adotado foi de até 5%. Os resultados mostraram que a hipertensão aumentou a frequência e reduziu a amplitude, a FWHM, a FDHM nas regiões EPI e VD, a largura e duração total nos cardiomiócitos EPI e do VD, o T_{pico} nas células EPI e nas do VD, a I_{max} e a τ das *sparks* nas células EPI e do VD no grupo HS ($p < 0,05$). A hipertensão reduziu a frequência das *sparks* nas células EPI e do VD e aumentou a frequência nas células END. A hipertensão também aumentou a amplitude, a FWHM, a FDHM, a largura e duração total, o T_{pico} , a I_{max} e a τ das *sparks* no grupo HSD ($p < 0,05$). O treinamento físico reduziu a frequência das *sparks* nas células END e EPI dos

ratos normotensos ($p < 0,05$) e o destreinamento reverteu estas alterações ($p < 0,05$). O treinamento físico reduziu a frequência das *sparks* nas células END e do VD dos ratos hipertensos ($p < 0,05$) e o destreinamento não reverteu estas alterações ($p < 0,05$). O treinamento físico aumentou a amplitude das *sparks* nas células END e do VD e reduziu nos cardiomiócitos EPI dos ratos normotensos e hipertensos ($p < 0,05$) e o destreinamento não reverteu estas adaptações ($p < 0,05$). O treinamento físico aumentou a FWHM, a FDHM, a largura e duração total, o T_{pico} , a τ e reduziu a I_{max} , nos cardiomiócitos dos ratos normotensos ($p < 0,05$). O destreinamento não reverteu as alterações promovidas pelo treinamento físico na FWHM e na FDHM das células END e do VD, na largura total nas células END e do VD, na duração total nas células END, no T_{pico} nas células END e no VD, na I_{max} e na τ dos ratos normotensos ($p < 0,05$). O treinamento físico aumentou a FWHM, a FDHM, a largura e duração total, o T_{pico} , a I_{max} e a τ nas células END e do VD, e reduziu a I_{max} nas células EPI dos ratos hipertensos ($p < 0,05$). O destreinamento não reverteu as alterações promovidas pelo treinamento físico na FWHM e FDHM nas células END e EPI, na largura e duração total e no T_{pico} nas células END e EPI, na I_{max} nas células END e do VD e na τ dos ratos hipertensos ($p < 0,05$). Em relação às diferenças regionais, cardiomiócitos END apresentaram maior frequência das *sparks* (grupos HS, HSD e HD), amplitude (grupos NT e HT), largura e duração (grupo HT) e I_{max} (grupos NS, NT e HT), em relação aos EPI do ventrículo esquerdo ($p < 0,05$). Contrário a isto, observaram-se valores menores para a amplitude (grupos NS, NSD, ND, HSD e HD), a largura total (grupos NS, NT e NSD), a FDHM (grupos NS e NT), a duração total das *sparks* (grupos NS, NT e HT), o T_{pico} (grupos NS e HSD), a τ (grupos NS, NT e HSD) e a I_{max} (grupos NSD, ND, HSD e HD) nas células END, em relação às EPI. Conclui-se que: a) o treinamento físico atenuou os efeitos deletérios da hipertensão sobre as características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} nos ratos SHR; b) o destreinamento por 4 semanas não reverteu todos os efeitos promovidos pelo treinamento físico nas características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} e c) as características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} acontecem de forma distinta entre as células das regiões END e EPI do ventrículo esquerdo.

ABSTRACT

QUINTÃO JÚNIOR, Judson Fonseca, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2012. **Characteristics of spontaneous Ca^{2+} sparks in cardiomyocytes from spontaneously hypertensive rats submitted to exercise training and detraining.** Adviser: Thales Nicolau Primola Gomes. Co-advisers: Antônio José Natali and Leonardo Bonato Felix.

The aim of this study was to investigate the effects of exercise training and detraining on the characteristics of spontaneous Ca^{2+} sparks in cardiomyocytes of spontaneously hypertensive rats (SHR). Sixteen-week old SHR and normotensive Wistar rats with initial weight of $357,5 \pm 4,0\text{g}$ (SHR) and of $385,2 \pm 6,6\text{g}$ (Wistar), were randomly divided into 8 groups: hypertensive sedentary (HS); trained hypertensive (HT); normotensive sedentary (NS); trained normotensive (NT); hypertensive sedentary for 12 weeks (HSD); untrained hypertensive (HD); normotensive sedentary for 12 weeks (NSD); untrained hypertensive (ND). The animals from TH, NT, HD and ND groups were subjected to a running training program, 5 days/wk, 1h/day, 60-70% of running maximal velocity, for 8 weeks. The animals from HD and ND groups remained without exercise for 4 weeks after the training program. After euthanasia, cardiomyocytes from the sub epicardial (EPI) and sub endocardial (END) regions of the left ventricle and from the right ventricle were isolated by enzymatic dispersion. Calcium sparks were measured by means of a confocal microscope. The amplitude, frequency, FWHM, FDHM, T_{pico} , I_{max} e τ of the calcium sparks were analyzed by using the SparkMaster software. Data were analyzing using Kolmogorov-Smirnov, Shapiro-Wilk test and Kruskal-Wallis tests and two-way ANOVA followed by the post hoc Tukey test. The results demonstrated that hypertension increased the frequency and reduced the amplitude, FWHM and FDHM in myocytes from EPI and VD regions, total width and duration in myocytes from EPI and VD regions, T_{peak} in cells from EPI and VD regions, I_{max} and τ in cells from EPI and VD regions of sparks in HS group animals ($p < 0,05$). Hypertension reduced the frequency of sparks in cells from EPI and VD regions and increased the frequency in cells from END region. Hypertension also increased the amplitude, FWHM, FDHM, total width and duration, T_{peak} , I_{max} and τ of sparks in cells from HSD group ($p < 0,05$). Exercise training reduced the frequency of sparks in END and EPI cardiomyocytes from normotensive rats ($p < 0,05$) and

detraining reversed these changes ($p < 0.05$). Exercise training reduced the frequency of sparks in cells from END region and VD of hypertensive rats ($p < 0.05$) and detraining did not reversed these changes ($p < 0.05$). Exercise training increased the amplitude of sparks in cells from END region and VD and reduced it in EPI cells from normotensive and hypertensive rats ($p < 0.05$) and detraining did not reversed these changes ($p < 0.05$). Exercise training increased the FWHM, FDHM, total width and duration, T_{peak} , τ and reduced I_{max} in cardiomyocytes from normotensive rats ($p < 0.05$). Detraining did not reversed the changes caused by exercise training in FWHM and FDHM of cells from END region and VD, total width in cells from END region and VD, total duration in cells from END region, T_{peak} in cells from END region and VD, I_{max} and τ in cardiomyocytes from normotensive rats ($p < 0.05$). The exercise training increased FWHM, FDHM, total width and duration, T_{peak} , I_{max} and τ in cells from END region and VD, and reduced I_{max} in cells from EPI region of hypertensive rats ($p < 0.05$). Detraining did not reversed the changes caused by exercise training in FWHM and FDHM in END and EPI cells, total width and duration, T_{peak} in END and EPI cells, I_{max} in regions END and VD cells and τ of hypertensive rats ($p < 0.05$). Regarding regional differences, END cells had a greater frequency (groups HS, HSD and HD), amplitude (groups NT and HT), total width and duration (HT) and I_{max} (group NS, NT and HT) of sparks compared to EPI cells from left ventricle ($p < 0.05$). In contrast, END cells showed lower amplitude (groups NS, NSD, ND, HD, and HSD), total width and duration (group NS, NT and NSD) and FDHM (groups NS and NT) (group NS, NT and HT), T_{peak} (groups NS and HSD), τ (group NS, NT, and HSD) and I_{max} (groups NSD, ND, HSD and HD) of sparks as compared to EPI cells. It was concluded that: a) exercise training modified the characteristics of spontaneous Ca^{2+} sparks in normotensive rats and attenuated the deleterious effects of hypertension on these characteristic in SHR; b) detraining for 4 weeks did not reverse all the effects caused by exercise training in the characteristics of spontaneous Ca^{2+} sparks; and c) the characteristics of spontaneous Ca^{2+} sparks occur distinctly between left ventricular END and EPI cells.

1- INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial sistêmica (*HAS*) é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial. A *HAS* associa-se frequentemente com o aumento da incidência de patologias como doenças coronarianas, insuficiência cardíaca e renal e acidente vascular cerebral, sendo registrados aproximadamente 5 milhões de mortes por ano devido a alguma destas doenças (Pescatello et al. 2004, Wrobel et al. 2011, Roditi et al. 2011).

A instalação do processo hipertensivo caracteriza-se por disfunções no miocárdio por causa das adaptações sofridas pelo coração em resposta à sobrecarga de pressão. Essas adaptações patológicas do coração, em função da sobrecarga de pressão, trazem como consequência modificações estruturais levando à insuficiência cardíaca (Weber 2001; Matsubara et al., 2006). A sobrecarga crônica de pressão imposta sobre o músculo cardíaco no processo hipertensivo provoca um aumento do estresse sobre a parede ventricular esquerda. Tal estresse gera um aumento na espessura do ventrículo, uma redução na câmara cardíaca e no volume diastólico final, caracterizando um tipo de hipertrofia denominada “*hipertrofia concêntrica*” (Pawlush 1993; McMullen & Jennings, 2007). Com o processo hipertensivo há um aumento desproporcional na matriz extracelular de colágeno, levando à disfunções no músculo cardíaco, em consequência da diminuição da complacência ventricular. Além destas modificações estruturais no coração, observa-se também um crescimento desproporcional na densidade dos vasos, ocasionando uma diminuição da reserva coronariana, gerando uma deficiência na captação de oxigênio e nutrientes pelos cardiomiócitos (Weber 2001; Gonzales et al., 2002; Matsubara et al., 2006).

No nível celular, ocorrem alterações no acoplamento excitação-contração (*AEC*) em resposta ao processo hipertensivo (Bers, 2002a; Kemi et al. 2008). O *AEC* envolve o processo que vai da excitação elétrica dos cardiomiócitos até a contração, sendo o cálcio (Ca^{2+}) fundamental neste processo.

No *AEC*, com a despolarização do sarcolema após o potencial de ação cardíaco (*PA*), acontece o influxo de Ca^{2+} para o interior do cardiomiócito (Fabiato 1975). Esse influxo ocorre em função da abertura dos canais de Ca^{2+} do tipo L dependentes de voltagem, sendo estes chamados de receptores de

dihidropiridina (*DHPR*). Nos ratos, os *DHPR* são os principais locais de entrada de Ca^{2+} na célula (Bers 2002a). Estes canais são localizados principalmente nos túbulos transversos (*túbulos-T*) da membrana plasmática, voltados para o retículo sarcoplasmático (*RS*) (Scriven 2000). O influxo de Ca^{2+} nestes canais gera uma corrente de entrada de Ca^{2+} (I_{caL}), provocando um aumento do Ca^{2+} no citosol que será responsável pela liberação de mais Ca^{2+} pelo RS. A liberação de Ca^{2+} pelo RS acontece pela abertura de canais chamados de receptores de rianodina (RyR) (apud Cannell 2011). O espaço existente entre a membrana plasmática e a membrana do RS é denominado *subespaço*, sendo que esse arranjo estrutural favorece a formação de microdomínios de Ca^{2+} , facilitando desta forma a ligação localizada do Ca^{2+} aos receptores alvos (Cheng & Lederer 2008, Berridge 2006). A organização espacial do Ca^{2+} em microdomínios é uma forma de aumentar a versatilidade do sistema de sinalização celular, permitindo a regulação de diferentes processos dentro de regiões localizadas da célula (Berridge 2006). O *subespaço* também é visto na membrana do RS e é nesse local que é encontrada a unidade liberadora de Ca^{2+} , os RyRs, representada pelos canais do tipo 2 (*RyR2*) nas células cardíacas. A estrutura formada pelos canais do tipo L, o *subespaço* e os RyR2s formam o complexo estrutural e funcional do AEC chamado de *couplon* (Franzini-Armstrong et al. 1999).

A entrada do Ca^{2+} pelos canais do tipo L faz aumentar a concentração de cálcio ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) no subespaço. Quando a concentração de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ atinge o limiar de 10^{-8} e 10^{-7} M ativa os RyR2s para liberar o Ca^{2+} do RS, sendo que a ativação máxima ocorre entre 10^{-6} e 10^{-5} M (Meissner 2002). Esse processo é conhecido como liberação do Ca^{2+} induzida por Ca^{2+} (Fabiato e Fabiato 1978; Fabiato 1983). Neste processo, o Ca^{2+} se ligará a dois locais específicos no RyR2, um de baixa afinidade, onde se ligará rapidamente ativando o canal e, outro, de alta afinidade no qual se ligará mais lentamente desativando o canal (Bers 2002b). Em um *couplon* existem uma margem de 10-25 DHPR / 100 RyR2, sendo que aproximadamente 6-20 RyR2s são abertos em cada *couplon* (Bers 2002a; 2008). A ativação dos RyR2s provoca aumentos transitórios na concentração citoplasmática de Ca^{2+} , variando desde eventos mais discretos como as *sparks de Ca^{2+}* , até eventos menos discretos como o transiente intracelular global de Ca^{2+} (transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$). A liberação de Ca^{2+} pelos RyR2s durante o transiente de

$[Ca^{2+}]_i$ ativará os filamentos contráteis provocando a contração celular (Cheng & Lederer 2008; Bers 2002a).

As *sparks de Ca^{2+}* foram descritas pela primeira vez por Cheng et al. (1993), e são definidas como eventos elementares de liberação de Ca^{2+} em uma única unidade liberadora. A unidade liberadora de Ca^{2+} é formada pelo conjunto de RyR2 no RS. (Guatimosim et al., 2002, Cheng 2008). Normalmente, as *sparks de Ca^{2+}* são medidas por meio de corantes fluorescentes sensíveis ao Ca^{2+} e observadas em um microscópio confocal de varredura a laser, produzindo imagens contendo informações espaciais em uma dimensão temporal, onde o Ca^{2+} citosólico livre é representado por diferentes intensidades de pixel (Pichth et al. 2007).

Os RyR2s que formam a unidade liberadora de Ca^{2+} são macromoléculas de sinalização complexas e de estrutura tetrâmera. Em cada unidade estrutural dos RyR2s são encontradas proteínas ligadas no lado citoplasmático que regulam seu funcionamento. Estas proteínas são: a proteína de ligação FK506, 12.6 (*FKBP12.6*), proteína cinase A (*PKA*), proteína cinase A de ancoragem (*mAKAP*), proteína fosfatase 1 (*PPI*) e proteína fosfatase 2A (*PP2A*). Os RyR2s são fosforilados pelas proteínas PKA, PKC e proteína cinase II dependente da via Ca^{2+} /calmodulina (*CaMKII*) (Marks 2001). A fosforilação dos RyR2s pela PKA aumenta a sensibilidade dos RyR2 ao Ca^{2+} , aumentando desta forma a sua atividade. Alguns estudos mostraram que a CaMKII também pode fosforilar os RyR2s, embora haja controvérsias no que diz respeito à ativação ou inibição dos RyR2s pela ação da CaMKII (Witcher et al., 1991; Takasago et al., 1991; Hain et al., 1995; Lokuta et al., 1995; Marks 2001). A proteína FKBP12.6 se liga à quatro monômeros de RyR2 estabilizando o canal. A deficiência nesta proteína está associada com o vazamento de Ca^{2+} do RS, podendo levar à arritmias (Lehnart et al. 2006). Outra proteína envolvida na regulação da liberação de Ca^{2+} pelos RyR2s é a calsequestrina (*CASQ2*). A CASQ2 é uma proteína de ligação ao Ca^{2+} no RS que interage com os RyR2s regulando a sensibilidade dos RyR2s ao Ca^{2+} . Com a deficiência de CASQ2 é observado o aumento na sensibilidade dos RyR2s ao Ca^{2+} e, conseqüentemente, o aumento da frequência de liberação de Ca^{2+} do RS em baixas concentrações de Ca^{2+} citosólico (Qin et al., 2008; Stevens et al., 2009).

Os RyR2s estão dispostos no RS em grupos (*clusters* de RyR2). Os *clusters* são formados por agrupamentos de RyR2s, sendo que cada *cluster* contem entre 10 e 300 RyR2s (Guatimosim et al., 2002). Estudos utilizando análises de imagem e tomografias sugerem que uma *spark* representa a abertura de aproximadamente 15-18 RyR2 e de aproximadamente um *couplon* de RyR2 por μm^3 , em um *couplon* no túbulo-T. As *sparks* de Ca^{2+} resultantes de um *couplon* periférico (fora do túbulo-T) representam a abertura de aproximadamente 14 RyR2s (Cannell & Kong 2011).

Gradientes macroscópicos de concentração de Ca^{2+} livre são encontrados através da superfície celular e organelas intracelulares. A concentração de Ca^{2+} citosólica é mantida em torno de 100 nM por meio de mecanismos que garantem a homeostase intracelular de Ca^{2+} , como o trocador sódio-cálcio (NCX), a Ca^{2+} ATPase do RS (SERCA2a) e por moléculas responsáveis pelo tamponamento do Ca^{2+} no citosol da célula. A baixa concentração de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ no citosol da célula em repouso evita a toxicidade e apoptose celular (Bers 2002a; Cheng & Lederer 2008).

No momento da diástole cardíaca ocorre a dissociação do Ca^{2+} dos sítios de ligação com a troponina C e a remoção do Ca^{2+} do citoplasma da célula, promovendo o relaxamento celular. O processo de remoção do Ca^{2+} envolve quatro mecanismos: 1) captação do Ca^{2+} para o RS através da SERCA2a; 2) remoção do Ca^{2+} do citoplasma para fora da célula via Ca^{2+} ATPase do sarcolema; 3) remoção do Ca^{2+} para fora da célula via NCX e 4) captação do Ca^{2+} pela mitocôndria (Bers 2002a). Em cardiomiócitos de ratos o mecanismo mais importante para remoção do Ca^{2+} do citoplasma é a captação do Ca^{2+} através da SERCA2a, correspondendo por aproximadamente 92% da recaptação total (Bassani 1994). Apenas 5-8% são removidos para fora da célula através da ATPase do sarcolema e do NCX (Bers 2008). Em cardiomiócitos de coelho, cães, gatos e no ventrículo de humanos esta relação é de aproximadamente 70% pela SERCA2a e de 25-28% pela ATPase do sarcolema e NCX (Bers 2008). Na insuficiência cardíaca esse balanço pode modificar-se para aproximadamente 50-50%, sendo observada uma perda na atividade da SERCA2a e um aumento da extrusão de Ca^{2+} via NCX (Pogwizd 2001; Piacentino 2003).

Com relação à SERCA2a, sua atividade é regulada principalmente pelo inibidor endógeno fosfolamban (*PLB*). Quando a *PLB* é fosforilada, ela é liberada da SERCA2a, cessando assim a inibição e, conseqüentemente, aumentando a atividade de ATPase e captação do Ca^{2+} para o RS (Bers 2002a). O mecanismo de regulação via *PLB* envolve a fosforilação do resíduo de serina 16 (Ser-16) pela PKA, por uma via dependente de AMP cíclico e a fosforilação de um resíduo de treonina (Thr-17) pela proteína cinase II, ativada pela via da calmodulina (Kirchberger 1974; Mattiazzi et al., 2005).

Na fase diastólica do AEC é possível encontrar eventos de liberação espontânea de Ca^{2+} . Estes eventos de liberação espontânea de Ca^{2+} são chamados “*sparks espontâneas de Ca^{2+}* ”. As *sparks* espontâneas de Ca^{2+} são liberações espontâneas provenientes da abertura dos RyR2s quando a célula está em repouso. Uma *spark* espontânea ocupa uma área de aproximadamente 2,0 μm de diâmetro e um volume de 8 fl (Cheng & Lederer 2008). Em uma alta concentração de Ca^{2+} exógeno, os eventos locais de Ca^{2+} correspondentes a uma *spark* são chamados *picos de Ca^{2+}* , que se estendem por 0,6 μm num tempo de duração de aproximadamente 8 ms (Cheng & Lederer 2008). Os picos de Ca^{2+} são utilizados para visualizar o fluxo de liberação de Ca^{2+} durante as *sparks* espontâneas de Ca^{2+} em células do músculo cardíaco (Cheng et al., 1999). Para que ocorram as *sparks* espontâneas de Ca^{2+} não é necessária a entrada de Ca^{2+} no miócito através dos canais de Ca^{2+} do tipo L ou por outros caminhos através da membrana plasmática. Alguns estudos mostram que no potencial de repouso de -80 mV, mesmo com a retirada total do Ca^{2+} extracelular ainda assim são encontradas *sparks* espontâneas de Ca^{2+} (Cheng 1993; Cannell 1994). A abertura dos RyR2s para ocorrerem estes eventos espontâneos dependem da concentração de Ca^{2+} no citosol e da concentração de Ca^{2+} no lúmen do RS ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{RS}}$). No que se refere à $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{RS}}$, alguns estudos apontam um papel crítico do conteúdo de Ca^{2+} no RS na regulação dos RyR2 e na sinalização do Ca^{2+} no AEC. A queda da concentração de $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{RS}}$ promove o fechamento dos RyR2, promovendo o encerramento das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} . Em contrapartida, um aumento excessivo na $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{RS}}$ promove um aumento na sensibilidade dos RyR2, aumentando a frequência de *sparks* espontâneas (Cheng 1996; Santana 1997; Gyorke 1998). Estudos usando estimuladores e inibidores dos RyR2, como a cafeína e tetracaína, mostraram que

o aumento da frequência de *sparks* de Ca^{2+} leva a um aumento no efluxo de Ca^{2+} do RS, ocasionando o esgotamento do Ca^{2+} no RS e, como resultado, uma redução na frequência de *sparks*. Estudos apontam que o aumento na frequência de *sparks* espontâneas de Ca^{2+} proveniente do aumento da $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{RS}}$ está associado ao aparecimento de ondas de Ca^{2+} , sendo que esta sobrecarga de Ca^{2+} no RS pode se relacionar a problemas cardíacos, como arritmias (Cheng 1993; 1996).

As *sparks* espontâneas de Ca^{2+} provenientes de uma unidade liberadora encontram-se em regiões específicas, próximas dos locais onde foram liberadas. As *sparks* espontâneas de Ca^{2+} apresentam-se centralizadas nos túbulos-T, no disco Z de um sarcômero. Nesta região, as unidades liberadoras estão localizadas em um plano perpendicular ao eixo longitudinal da célula e apresentam-se dispostas uma da outra numa distância de 0,7 μm em cardiomiócitos de ratos (Franzini-Armstrong et al., 1999; Soeller et al., 2007). Existem cerca de 2 a 5 unidades liberadoras próximas ao volume de uma *spark* (8 fl). Contudo, estas unidades liberadoras não são ativadas pelas *sparks* espontâneas de Ca^{2+} , exceto quando acontece uma sobrecarga de Ca^{2+} , fazendo com que as unidades liberadoras nas proximidades sejam ativadas e comecem a liberar mais *sparks* de Ca^{2+} . Estas liberações múltiplas e sincronizadas de *sparks* de Ca^{2+} são denominadas “*sparks compostos*”. Os *sparks* compostos podem levar a uma propagação sincronizada de *sparks*, evoluindo para uma onda de Ca^{2+} . Os fatores para que aconteça esta propagação de *sparks* compostos incluem uma maior concentração de $[\text{Ca}^{2+}]$ extracelular ou no RS bem como uma maior frequência, amplitude e duração das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} (Cheng & Lederer 2008).

A maioria dos estudos que analisam o AEC em cardiomiócitos não fazem a distinção entre as diferenças regionais do ventrículo esquerdo. Contudo, os mecanismos envolvidos no processo de AEC, bem como as *sparks* de Ca^{2+} , podem variar entre as regiões do subendocardio (*End*) e do subepicardio (*Epi*) do ventrículo. Nesse sentido, Dilly et al. (2006) investigaram as diferenças regionais em alguns mecanismos do AEC. Os autores observaram uma maior frequência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} nos cardiomiócitos ventriculares de camundongos da região *End* em comparação à região *Epi*, sendo encontrados também uma expressão dos RyR2s quase 3 vezes maior nos cardiomiócitos da região *End* em comparação à região *Epi*. Em relação a estas diferenças, foi demonstrado que a

região *End* tem um maior transiente de $[Ca^{2+}]_i$ em comparação à região *Epi* (Figueredo et al 1993; Fowler et al 2005, Dilly et al., 2006). Isso se dá em função de alguns mecanismos como: 1) um PA mais prolongado nas células da região *End* em comparação à *Epi*, permitindo com isso um maior influxo de Ca^{2+} e, conseqüentemente, um maior transiente de $[Ca^{2+}]_i$ (McIntosh et al. 2000); 2) diferenças regionais nos DHPR, sendo maior a expressão na região *End* em comparação à região *Epi* (Wang & Cohen, 2003); 3) da SERCA2a, sendo menor a expressão na região *End* em comparação à região *Epi* (Laurita et al., 2003); 4) do NCX, sendo maior a expressão e função na região *Epi* em comparação a região *End* em cardiomiócitos de cães e camundongos (Xiong et al., 2005; Dilly et al., 2006), 5) e do RyR2, sendo maior a expressão na região *End* em comparação à região *Epi* em cardiomiócitos de camundongos (Dilly et al., 2006).

Algumas doenças, como a HAS, podem alterar os mecanismos envolvidos no processo de AEC. O estresse imposto pela HAS crônica promove adaptações patológicas no músculo cardíaco, principalmente no ventrículo esquerdo (VE). Essas adaptações são uma resposta do músculo cardíaco saudável à sobrecarga de trabalho e estão associadas com o aparecimento de disfunções na sinalização do Ca^{2+} , como a redução na atividade e expressão da SERCA2a (Dash et al., 2001, Bers, 2002a), o aumento na expressão e atividade dos NCX, (Sipido et al., 2002; Xiong et al., 2005), o prolongamento no PA (Kaab et al., 1998 Wickenden et al., 1999 ; Lacombe et al., 2007), o aumento na distância entre o RS e os túbulos-T (Song et al., 2006) e o aumento da frequência de liberação das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} do RS (Marks et al., 2002).

Nos estágios iniciais da HAS observa-se um aumento do fluxo de liberação de Ca^{2+} e um aumento da contratilidade celular para compensar o aumento da sobrecarga de pressão e manter o débito cardíaco. Esse processo ocorre principalmente em função do aumento da atividade dos RyR2s (Chen-Izu et al., 2007). Em estágios mais avançados, há uma diminuição na atividade da SERCA2a, acompanhado de um aumento na atividade dos NCX, provocando uma maior saída de Ca^{2+} dos cardiomiócitos, o que reduz o conteúdo de Ca^{2+} do RS. Isso contribui para que o transiente de $[Ca^{2+}]_i$ seja menor e mais lento, gerando uma maior concentração de Ca^{2+} citosólico durante a diástole (Bers, 2002a; Kemi et al., 2008). O organismo exposto a um longo período de hipertensão sustentada

gera uma hipertrofia cardíaca patológica que poderá evoluir para uma insuficiência cardíaca (Bing et al., 2002). Desta forma vários estudos têm relatado disfunções no AEC com a instalação da insuficiência cardíaca. A insuficiência cardíaca é um estado crônico em que as perturbações no ciclo do Ca^{2+} ocorrem simultâneas à deterioração da função cardíaca e ao aumento da arritmogênese (Houser et al., 2000; Wasserstrom et al., 2009). Algumas disfunções têm sido relatadas no AEC com a instalação da insuficiência cardíaca, como a diminuição na rede de túbulos-T, provocando um aumento na distância entre os RyR2s e os DHPR (Balijepalli, et al., 2003), disfunções na ativação dos RyR2, provocando uma liberação desordenada de Ca^{2+} do RS (Song, et al., 2006) e a diminuição da captação de Ca^{2+} pelo RS em função da diminuição na atividade e expressão da SERCA2a (Hasenfuss, 1998; Dash et al., 2001).

Com o objetivo de investigar as mudanças no ciclo intracelular do Ca^{2+} em resposta a hipertensão, Kapur et al. (2010) estudaram ratos SHR, divididos em quatro faixas etárias (6, 7, 9 e 22 meses). Os autores compararam, em relação aos controles normotensos, as mudanças no ciclo do Ca^{2+} em função da progressão da doença. Como resultados eles encontraram um efeito inotrópico positivo compensatório nos animais SHR de 7 e 9 meses, seguido de um aumento na amplitude e no tempo de duração do transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ nos animais SHR de 9 meses. Isto indicou para mudanças nos mecanismos de recaptção do Ca^{2+} neste período da doença. A duração do transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ foi ainda maior nos animais SHR de 22 meses, apesar da diminuição da amplitude do transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ nos animais desta idade. Os autores observaram também um aumento na incidência de *sparks* espontâneas de Ca^{2+} nos cardiomiócitos dos animais SHR, comparados aos controles em todas as idades, sugerindo uma maior probabilidade de surgimento de arritmias, antes mesmo da instauração da insuficiência cardíaca.

As doenças cardíacas podem modificar as propriedades das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} em função de alterações em mecanismos que controlam a sinalização de Ca^{2+} intracelular. Entre as principais mudanças podemos citar as alterações encontradas nos RyR2s, as alterações na organização espacial dos *clusters* de RyR2, bem como as mudanças nas proteínas associadas aos RyR2s, as alterações na sensibilidade dos RyR2s ao Ca^{2+} , o aumento na concentração de Ca^{2+} no RS, promovendo uma sobrecarga de Ca^{2+} no RS, e as modificações na

duração e forma do PA (Cheng & Lederer 2008). Um dos principais problemas relatados pela literatura no que diz respeito às *sparks* espontâneas de Ca^{2+} em patologias cardíacas é o surgimento de arritmias (Cheng & Lederer 2008). A corrente arritmogênica também conhecida como *corrente transitória de influxo* (I_{TI}) representa flutuações espontâneas na corrente da membrana, gerando uma propagação de alta concentração de $[Ca^{2+}]_i$ provenientes da liberação espontânea de Ca^{2+} do RS (Berlin et al. 1989). A I_{TI} pode ativar uma arritmia de duas maneiras. A primeira ocorre através de um aumento precoce da I_{TI} após a despolarização da membrana em função da interação entre as correntes de Ca^{2+} (I_{ca}) despolarizante e a corrente repolarizante de potássio (I_{K+}). A segunda ocorre em função da produção atrasada da I_{TI} após a despolarização, por meio da geração de *sparks* espontâneas de Ca^{2+} , causando uma onda de Ca^{2+} . Ambos os mecanismos podem produzir atividade elétrica anormal e extra-sístoles (Cheng & Lederer 2008).

Alguns estudos apontam que a propagação de ondas de Ca^{2+} , capazes de gerar um processo arritmogênico, acontece na presença de sobrecarga na concentração de $[Ca^{2+}]_{RS}$. Quando o RS torna-se sobrecarregado, ele fica instável, levando a uma maior sensibilização dos RyR2 e uma maior liberação de *sparks* espontâneas de Ca^{2+} (Cheng et al., 1993; Cheng & Lederer 2008). Nesse sentido, Fowler et al. (2005) investigaram os efeitos da hipertensão sobre a sinalização de Ca^{2+} em cardiomiócitos do VE das regiões *End* e *Epi* de ratos SHR e Wistar-Kyoto. Como resultados eles observaram que a hipertensão induziu uma hipertrofia patológica no coração dos ratos SHR. Foi medida também uma maior amplitude do transiente de $[Ca^{2+}]_i$, bem como um maior conteúdo de Ca^{2+} no RS, nos cardiomiócitos da região *Epi* em relação à região *End* nos ratos SHR. Entretanto não foram encontradas diferenças entre os grupos na região *End*. O tempo de decaimento do transiente de $[Ca^{2+}]_i$ não se alterou entre os grupos, já o tempo para o pico do transiente de $[Ca^{2+}]_i$ foi menor nos cardiomiócitos da região *Epi* em comparação à região *End* nos grupos, SHR e WKY, sendo também maior na região *End* dos SHR comparados a região *End* dos WKY. Outro achado importante foi que a região *Epi* dos SHR possuem menor atividade do NCX. Utilizando ratos SHR com insuficiência cardíaca instaurada, Song et al. (2006) estudaram as mudanças nos mecanismos relacionados à liberação desordenada de

sparks de Ca^{2+} . Os autores observaram uma redução na amplitude do transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ e um atraso na liberação das *sparks* de Ca^{2+} , gerando um aumento no prolongamento do transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ e um decaimento mais lento. Tais mudanças na sinalização de Ca^{2+} foram relacionadas com a reestruturação da organização espacial da célula, onde foram encontrados aumentos na distância entre os túbulos-T e o RS nos animais SHR com insuficiência cardíaca. Ward et al. (2010) analisaram a sinalização de Ca^{2+} em cardiomiócitos de ratos SHR. Foi observado um aumento no pico do transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ e um tempo de decaimento do transiente mais lento nos cardiomiócitos dos ratos SHR. Os autores também encontraram uma redução na expressão da SERCA2a e nos NCX, juntamente com uma redução na rede dos túbulos-T nos ratos SHR.

Estes estudos evidenciam as causas e conseqüências das alterações moleculares e estruturais no cardiomiócito em função da HAS. Estudos epidemiológicos prévios mostraram que a prática de exercícios físicos tem uma correlação inversa com a mortalidade por doença cardíaca, sendo indicada como um tratamento anti-hipertensivo não farmacológico (Pescatello et al., 2004). No nível celular, os mecanismos responsáveis pela melhora da função contrátil do miocárdio em resposta ao exercício estão relacionados com alterações na $[\text{Ca}^{2+}]_i$ e na sensibilidade dos miofilamentos ao Ca^{2+} .

No que diz respeito à concentração de $[\text{Ca}^{2+}]_i$, alguns estudos indicam que o exercício físico regular pode promover um aumento no fluxo de Ca^{2+} durante a sístole nos cardiomiócitos, em função de um melhor acoplamento entre os DHPR e RyR2 (Mokelke et al., 1997; Kemi et al., 2005; Kemi et al., 2008). Além disso, observa-se uma redução da concentração de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ na diástole em função do aumento da expressão e atividade da SERCA2a e do número de NCX na membrana plasmática da célula (Wisloff et al. 2001; Wisloff et al. 2002; MacDonnell et al., 2005).

Em relação à sensibilidade dos miofilamentos ao Ca^{2+} , alguns estudos apontam um aumento da sensibilidade em resposta ao treinamento físico (Kemi et al., 2004; Kemi et al., 2005; Diffie et al. 2001; Wisloff et al., 2001; Diffie & Nagle, 2003b). Estes estudos observaram que o aumento da sensibilidade ao Ca^{2+} induzida pelo treinamento pode estar relacionada a três fatores. O primeiro são as

alterações na fosforilação nas isoformas das proteínas miosina de cadeia leve e pesada, troponinas I, C e T (Diffe et al. 2001). Segundo, o aumento no pH celular em função da melhora no tamponamento (Wisloff et al., 2001). Terceiro, aumento na relação tensão/comprimento dos sarcômeros dos cardiomiócitos (Diffe & Nagle 2003b).

No que diz respeito aos mecanismos de sinalização do Ca^{2+} no AEC, estudos prévios indicaram que diferentes programas de treinamento físico foram eficientes em reverter as perdas na função contrátil cardíaca em cardiopatias (Kemi & Wisloff, 2010; Bito et al., 2010). Em animais com infarto do miocárdio, foi observado que o treinamento físico crônico de alta intensidade foi capaz de melhorar a homeostase do Ca^{2+} . Essas melhoras ocorreram em função do aumento do conteúdo de $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{RS}}$, da restauração da corrente do NCX (I_{NCX}), da normalização da duração do PA e da modulação da regulação da fosfolamban (Zhang et al., 2000a, b, 2001). Neste sentido, o treinamento físico de intensidade moderada restaurou a contratilidade celular e aumentou a expressão da SERCA2a e do NCX (Wisloff et al., 2002) e reverteu as perdas provocadas pelo infarto do miocárdio no transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ em cardiomiócitos de ratos (Bito et al. 2010). Resultados similares foram observados em cardiomiócitos de cães (Lu, et al., 2002). Em outro estudo, ratos com hipertensão renal induzida foram treinados em esteira rolante e comparados com animais hipertensos sedentários (Palmer et al., 2003). Embora nenhuma diferença na amplitude do transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ tenha sido observada, houve um aumento no tempo para o pico do transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ e uma redução no tempo para o decaimento do transiente de $[\text{Ca}^{2+}]$ intracelular nos animais treinados (Palmer et al., 2003). Wisloff et al. (2002) demonstraram que cardiomiócitos de ratos com infarto do miocárdio, submetidos a um programa de treinamento intervalado em esteira rolante, apresentaram reduções no pico do transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$. No entanto, o tempo para o pico do transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ e a concentração de $[\text{Ca}^{2+}]_i$, permaneceram inalterados em comparação aos animais infartados e sedentários. Bito et al. (2010) estudaram os efeitos do treinamento físico em cardiomiócitos de camundongos C57BL/6J, 8 semanas após a indução do infarto do miocárdio. Os autores observaram que na fase diastólica não houve diferenças no tempo para 50% para o declínio do transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$, havendo um aumento na capacidade de remoção do Ca^{2+} pelos NCX nos animais infartados

exercitados. Para verificar a perda diastólica do Ca^{2+} pelo RS, os autores analisaram as *sparks* espontâneas de Ca^{2+} e observaram uma tendência para o aumento da frequência das *sparks* nos grupos infartados sedentários em relação aos grupos treinados. Contudo, esta diferença não foi significativa. Também não foram encontradas diferenças significativas nos parâmetros amplitude, tempo e largura espacial das *sparks*. Shao et al. (2009) avaliaram o efeito do treinamento físico iniciado após o aparecimento da diabetes no funcionamento do RyR2 nos cardiomiócitos de ratos. Os autores observaram que a frequência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} aumentou três vezes e a liberação de Ca^{2+} durante a sístole foi dessincronizada com a liberação de Ca^{2+} durante a diástole nos animais diabéticos sedentários. Eles observaram também uma redução da amplitude, uma diminuição na constante de tempo de decaimento e um aumento no tempo para 50% do decaimento das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} nos animais sedentários diabéticos. Houve uma redução na sensibilidade ao Ca^{2+} nos RyR2s das células nos animais diabéticos sedentários. O treinamento físico aumentou a amplitude das *sparks* espontâneas nos ratos diabéticos, atenuou o aumento na frequência das *sparks* espontâneas e minimizou a dessincronização na liberação de Ca^{2+} . O exercício físico conseguiu normalizar a sensibilidade dos RyR2s ao Ca^{2+} . Um dos mecanismos responsáveis pela sensibilidade dos RyR2 ao Ca^{2+} é o nível de fosforilação dos RyR2s. Os autores encontraram aumentos nos níveis de fosforilação em Ser²⁸⁰⁸ e Ser²⁸¹⁴ induzido pelo diabetes, bem como uma redução na atividade da PKA e um aumento de 50% na atividade da CaMKII. O exercício físico normalizou a resposta do RyR2 ao Ca^{2+} , atenuou o aumento da fosforilação dos RyR2s ao nível de Ser²⁸⁰⁸ e Ser²⁸¹⁴, bem como normalizou a atividade das proteínas PKA e CaMKII. Kemi et al. (2011) analisaram os efeitos do treinamento físico sobre a geração e propagação das ondas espontâneas de Ca^{2+} durante a diástole em cardiomiócitos de ratos com insuficiência cardíaca. Os autores observaram uma maior frequência das ondas espontâneas de Ca^{2+} nos ratos com insuficiência cardíaca. O treinamento físico atenuou o aumento na frequência das ondas espontâneas de Ca^{2+} nos animais com insuficiência cardíaca.

Dado a importância da sinalização de Ca^{2+} no processo de AEC e as perdas ocorridas neste mecanismo em função do processo hipertensivo sustentado,

(Bers, 2002a; Kemi et al., 2008; Kapur et al., 2010) estudos que trazem uma melhor compreensão dos eventos de liberação de Ca^{2+} tornam-se relevantes.

Como observado pelos estudos citados, o treinamento físicos regular provoca melhoras na função cardíaca através de adaptações positivas sobre os cardiomiócitos (Kemi et al 2008; Kemi & Wisloff 2010). Contudo, a interrupção ou a redução significativa do treinamento produz um processo de reversão parcial ou até mesmo total destas adaptações, processo chamado de destreino físico (Mujika & Padilla, 2001). O destreino físico leva à perdas das adaptações do sistema cardiovascular adquiridas com o treinamento físico, resultando em diminuição da capacidade aeróbica. A diminuição do débito cardíaco máximo é o principal mecanismo responsável pela redução do $\text{VO}_{2\text{max}}$ (Evangelista et al., 1999; Mujika & Padilla, 2001).

Kemi et al. (2004) em seu estudo com ratas normotensas, observaram que o treinamento físico por 10 semanas aumentou o $\text{VO}_{2\text{max}}$ 37% acima dos valores iniciais e 26% acima dos valores do grupo sedentário. Contudo, duas semanas de destreino reverteram os valores de $\text{VO}_{2\text{max}}$ obtidos com o treinamento. No nível celular, o treinamento físico aumentou o comprimento e a largura dos cardiomiócitos, provocou hipertrofia em comparação aos animais sedentários, aumentou a contratilidade e o transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$, diminuiu o tempo de contração e o tempo de relaxamento dos cardiomiócitos. Durante o destreino, a largura celular regrediu completamente dentro de 2 semanas, enquanto o comprimento permaneceu 5% aumentado após 4 semanas de destreino. Após 2 semanas de destreino, o aumento na amplitude de contração dos cardiomiócitos em resposta ao treinamento regrediu quase completamente, observando-se um aumento do tempo para o relaxamento celular. O aumento da contratilidade celular em resposta ao treinamento foi associado a uma maior sensibilidade dos miofilamentos ao Ca^{2+} e as taxas de contração e relaxamento foram aumentadas, com aumentos paralelos no transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Todas essas adaptações permaneceram até duas semanas, mas desapareceram após quatro semanas de destreino. Em um estudo sobre os efeitos do destreino em cardiomiócitos isolados de animais SHR, Carneiro-Junior et al. (2010) investigaram os efeitos do treinamento físico de baixa intensidade e do destreino por 4 semanas sobre a pressão arterial, as propriedades

morfológicas e mecânicas de cardiomiócitos de ratos SHR. Os autores observaram que o programa de corrida de baixa intensidade em esteira e o destreinamento por 4 semanas não alteraram a pressão arterial sistólica dos ratos SHR. Todavia, o treinamento aumentou o comprimento dos cardiomiócitos sem alterar a largura e o volume, sendo que o destreinamento não reverteu este aumento. No que se refere aos parâmetros de contração, o treinamento não alterou a amplitude de contração celular, mas diminuiu o tempo para o pico de contração e aumentou a velocidade máxima de relaxamento dos cardiomiócitos. O destreinamento não afetou a amplitude de contração, a velocidade máxima de contração e a velocidade máxima de relaxamento, mas reverteu os efeitos sobre tempo para o pico de contração. Cabe ressaltar que a maioria dos estudos sobre os efeitos do treinamento e do destreinamento sobre a função dos cardiomiócitos utilizaram células da parede do VE, sem distinção por região. No entanto, alguns estudos mostraram que há diferenças nas propriedades morfológicas, elétricas e mecânicas entre as células das regiões End e Epi do VE (Diffe & Nagle 2003a; Natali et al. 2002; Dilly et al. 2006).

Neste sentido, Diffe & Nagle, (2003a) estudaram os efeitos do treinamento físico em esteira nas regiões End e Epi do VE de ratas *Sprague-Dawley*. Os autores observaram que o treinamento físico aumentou a sensibilidade ao Ca^{2+} , sendo estes aumentos maiores nos cardiomiócitos da região End em comparação à Epi. Além disso, houve um aumento da expressão da proteína miosina atrial de cadeia leve (aMLC₁) induzido pelo treinamento, sendo maior a expressão desta proteína na região End em comparação à Epi. Tais resultados sugeriram que os aumentos na sensibilidade dos miofilamentos ao Ca^{2+} estão relacionados com a expressão aumentada da proteína aMLC₁ e que estas diferenças não se dão de forma uniforme no ventrículo. Em contrapartida, Natali et al. (2002) observaram que apesar de hipertrofiar as células da região End, o treinamento de seis semanas com corrida voluntária não alterou a sensibilidade dos miofilamentos ao Ca^{2+} , a amplitude de contração e as velocidades de contração e relaxamento das células End e Epi em ratas *Sprague-Dawley*. No entanto, os autores encontraram um aumento induzido pelo treinamento na relação comprimento-tensão no sarcômero da região End, sugerindo uma modulação induzida pelo exercício no mecanismo de Frank-Starling, o que aumentaria a contratilidade cardíaca. Outro achado

importante foi que o treinamento físico aumentou a duração PA nas células da região Epi. O estudo concluiu que o exercício voluntário pode modular as propriedades morfológicas, mecânicas e elétricas dos cardiomiócitos e que esta modulação depende da região. Considerando que a mecânica de contração dos cardiomiócitos pode se diferir em função da região também em ratos hipertensos (McCrossan et al., 2004; Fowler et al., 2005) e que o exercício pode afetar a força de contração dos cardiomiócitos de forma distinta através da parede ventricular (Natali et al., 2002), espera-se que os efeitos do treinamento físico sobre o AEC e as *sparks* espontâneas de Ca^{2+} em cardiomiócitos sejam regionalmente distintos, em animais hipertensos. No entanto, até onde vai nosso conhecimento, nenhum estudo verificou os efeitos do treinamento e do destreinamento físico sobre as *sparks* espontâneas de Ca^{2+} em ratos SHR.

Nossas hipóteses neste estudo são: 1) que a hipertensão causa modificações deletérias nas *sparks* espontâneas de Ca^{2+} nos cardiomiócitos dos ratos SHR e o treinamento físico consegue atenuar estas perdas; 2) os ganhos obtidos com o treinamento físico nos cardiomiócitos dos ratos SHR sejam perdidos com o destreinamento físico; 3) as modificações nas *sparks* espontâneas de Ca^{2+} provocadas pela hipertensão, treinamento e destreinamento físico ocorram de forma distinta entre as regiões END e EPI do VE.

2- OBJETIVOS:

2.1- Objetivo Geral:

Este estudo teve como meta investigar os efeitos da hipertensão, do treinamento físico e do destreinamento físico sobre as características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} em cardiomiócitos de ratos espontaneamente hipertensos (SHR).

2.2- Objetivos Específicos:

- Verificar se a hipertensão altera as características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} de cardiomiócitos isolados de diferentes regiões (END e EPI) do VE e do ventrículo direito (VD).

- Verificar se o treinamento com corrida de baixa intensidade altera as características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} de cardiomiócitos isolados de diferentes regiões (END e EPI) do VE e do VD de ratos SHR e Wistar.

- Verificar se o destreinamento físico altera as características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} de cardiomiócitos isolados de diferentes regiões (END e EPI) do VE e do VD de ratos SHR e Wistar.

- Verificar se há diferenças entre as regiões END e EPI do VE nas características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} dos cardiomiócitos de ratos SHR e Wistar.

3- MATERIAIS E MÉTODOS:

3.1- Animais de experimentação e tratamentos:

Foram utilizados 32 ratos *Ratus norvegicus* espontaneamente hipertensos (*spontaneously hypertensive rats - SHR*) e 32 ratos Wistar normotensos com 16 semanas de idade e peso inicial médio de $357,5 \pm 4,0$ g (SHR) e $385,2 \pm 6,6$ g (Wistar). Os animais usados no presente estudo foram obtidos do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa – MG. Os ratos foram alojados em gaiolas coletivas com 4 ou 5 animais por gaiola, receberam água e ração comercial *ad libitum*, sendo mantidos em ambiente com temperatura média controlada de 22°C e regime de luminosidade de doze horas de escuridão e doze horas de claridade. Os animais foram pesados no primeiro dia de cada semana, utilizando uma balança eletrônica digital (Marte – Brasil, modelo AS5500C). Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal elaborado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa sob o protocolo nº 66/2011.

3.2- Grupos Experimentais:

Os animais foram separados aleatoriamente em 8 grupos, a saber:

Grupo hipertenso sedentário (HS): ratos hipertensos que não foram submetidos ao treinamento com corrida em esteira por 8 semanas (HS, n=8);

Grupo hipertenso treinado (HT): ratos hipertensos que foram submetidos ao treinamento com corrida em esteira por 8 semanas (HT, n=8);

Grupo hipertenso destreinado (HD): ratos hipertensos que foram submetidos ao treinamento com corrida em esteira por 8 semanas e logo após, permaneceram 4 semanas sedentários (HD, n=8);

Grupo hipertenso sedentário 12 semanas (HSD): ratos hipertensos que não foram submetidos ao treinamento com corrida em esteira por 12 semanas (HSD, n=8);

Grupo normotenso sedentário (NS): ratos normotensos que não foram submetidos ao treinamento com corrida em esteira por 8 semanas (NS, n=8);

Grupo normotenso treinado (NT): ratos normotensos que foram submetidos ao treinamento com corrida em esteira por 8 semanas (NT, n=8);

Grupo normotenso destreinado (ND): ratos normotensos que foram submetidos ao treinamento com corrida em esteira por 8 semanas e logo após, permaneceram 4 semanas sedentários (ND, n=8);

Grupo normotenso sedentário 12 semanas (NSD): ratos normotensos sedentários que não foram submetidos ao treinamento com corrida em esteira por 12 semanas (NSD, n=8);

3.3- Controle da pressão arterial e frequência cardíaca:

O acompanhamento da pressão arterial sistólica dos animais dos grupos hipertensos foi feito no início e no final do período experimental pela técnica de *pletismografia de cauda*. No final do período experimental, após 8 semanas a pressão arterial sistólica do grupo HS foi determinada. Os animais dos grupos HT tiveram a pressão arterial sistólica determinada 48h após a última sessão de treinamento. Os animais do grupo HD permaneceram em gaiolas coletivas após o período de treinamento, sem exercício por 4 semanas, quando então tiveram a pressão arterial sistólica determinada. A medida de pressão arterial sistólica do grupo HSD foi realizada após 12 semanas.

O acompanhamento da frequência cardíaca de todos os animais foi feito no início e no final do período experimental. Para a análise da frequência cardíaca os animais foram colocados em uma sala sem muitos ruídos e foi fixado na cauda do animal um sensor para captura do sinal da frequência cardíaca. Esse sinal foi capturado e processado pelo sistema (PowerLab – USA, ADInstruments).

3.4- Programa de treinamento físico e destreinamento físico:

Como previamente descrito (adaptado de Melo et al., 2003), o programa de corrida foi realizado em uma esteira rolante (Insight Instrumentos – Ribeirão Preto, SP, Brasil), 5 dias por semana, 1h por dia, durante 8 semanas. A intensidade do protocolo de treinamento foi monitorada através do aumento

progressivo do tempo e da velocidade de corrida, atingindo 1 hora/dia, 0° de inclinação e 60-70% da velocidade máxima de corrida (*VMC*) no final da 2ª semana de treinamento. Antes do início do treinamento, todos os animais foram colocados na esteira rolante para adaptação, durante 10 min/dia, 0° de inclinação, 0,3 km/h, durante 5 dias. Após 48 horas, foi realizado o teste na esteira rolante para determinação da *VMC* começando a 0,3 km/h, 0° de inclinação, com incrementos de 0,18 km/h a cada 3 minutos até a fadiga de cada animal, em todos os grupos experimentais. O momento da fadiga foi definido e o teste interrompido quando os animais não mantiveram o padrão de corrida de acordo com a velocidade da esteira (adaptado de Melo et al. 2003; Moraes-Silva et al. 2010). Os testes para avaliação do tempo total de exercício até a fadiga (*TTF*) e redefinição da intensidade (velocidade) do treinamento foram realizados em todos os animais no início do programa de treinamento e no final da 4ª semana de treinamento nos animais dos grupos treinados (HT, HD, NT e ND). Os animais dos grupos HD e ND permaneceram sem exercícios físicos por 4 semanas após a 8ª semana de treinamento. No final da 8ª semana de treinamento e após a 4ª semana de destreinamento os testes foram repetidos em todos os animais dos grupos experimentais para avaliação da eficácia do treinamento e os efeitos do destreinamento sobre o *TTF* dos animais. Durante o período experimental os animais dos grupos sedentários (HS, HSD, NS e NSD) foram manuseados identicamente e colocados na esteira rolante 3 dias/semana, 10 min/dia, 0° de inclinação a 0,3 km/h. O programa de treinamento durante as 8 semanas está apresentado na tabela 1.

Tabela 1 – Programa de treinamento:

Semanas	Duração (min)	Intensidade (VMC)
1ª semana: - Progressão diária da duração e intensidade	10 - 35	40 – 50%
2ª semana: - Progressão diária da intensidade	35 - 60	60 – 70%
3ª à 4ª semana: - Progressão diária da intensidade - No final da 4ª semana, teste de VMC para reajustar a carga de trabalho	60	60 – 70%
5ª à 8ª semana: - Progressão diária da intensidade de acordo com a carga reajustada na 4ª semana. - No final da 8ª semana, teste de VMC para observar os efeitos do treinamento físico no desempenho dos animais	60	60 – 70%

(min)= duração em minutos; (VMC)= velocidade máxima de corrida

3.5- Peso do coração e dos ventrículos:

Após a eutanásia, feita por deslocamento cervical, o coração foi removido, lavado em solução contendo 750 μM de CaCl_2 para retirar o excesso de sangue e pesado em balança de precisão (Gehaka – Brasil, modelo AG 200). Após, foi feita a perfusão das soluções de isolamento. Após a perfusão, os ventrículos (direito e esquerdo) foram separados dos átrios e pesados. Os índices de hipertrofia cardíaca e ventricular foram calculados pelas razões dos pesos do coração e dos ventrículos, respectivamente, pelo comprimento da tibia esquerda.

3.6- Isolamento dos cardiomiócitos:

Após a eutanásia, para a remoção cirúrgica do coração as cartilagens costocodrais foram abertas em ambos os lados e o esterno rebatido para cima. Após a exposição da cavidade torácica, a veia cava inferior e superior,

as artérias aorta e pulmonar, a traquéia, o esôfago e parte dos pulmões foram seccionados sucessivamente até a remoção em bloco do coração. Logo após a remoção, o coração foi colocado em um béquer contendo uma solução nutritora (solução A, item 3.7). Após estes procedimentos o coração foi transferido para uma placa de vidro, a artéria aorta ascendente foi seccionada com uma tesoura de microcirurgia na altura de sua segunda ramificação (tronco braquicefálico), fixada com um fio de sutura em uma agulha de aço inoxidável modificada (cânula), e acoplada a uma seringa de 1 mL que foi fixada a um sistema de *Langendorff* caseiro (37°C), com controle manual da perfusão por meio de uma torneira.

Para o isolamento dos cardiomiócitos o coração foi perfundido com uma solução de isolamento, contendo 750 μM de CaCl_2 (solução A, item 3.7), em um fluxo constante, até que os vasos coronários estivessem limpos de sangue. Em seguida, trocou-se a perfusão para uma solução livre de cálcio, contendo 0,1 mM de *EGTA* (solução B, item 3.7), durante 6 min, para destruição das bandas escalariformes entre os cardiomiócitos. Em seguida, o coração foi perfundido com uma solução contendo 1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ de colagenase tipo 2 (Worthington, EUA) e 100 μM de CaCl_2 (solução C, item 3.7), durante 25 min, para a destruição das fibras colágenas extracelulares. Todas as soluções utilizadas no procedimento de isolamento foram oxigenadas (O_2 100% – White Martins, Brasil) e mantidas a 37°C. Ao final da perfusão os ventrículos foram separados dos átrios e pesados. O ventrículo direito foi removido e o ventrículo esquerdo foi aberto na região do septo interventricular. Os músculos papilares e o tecido conjuntivo foram removidos manualmente da superfície do ventrículo esquerdo. O ventrículo esquerdo foi separado e fragmentos finos foram obtidos das regiões próximas ao epicárdio (EPI) e endocárdio (ENDO). Logo após, as amostras foram colocadas em frascos contendo 5 mL da solução enzimática (colagenase), suplementada com 1% de albumina sérica bovina (solução D, item 3.7). Os frascos foram agitados moderadamente durante 5 min, em “banho-maria” a 37°C, sendo o tecido cardíaco oxigenado (O_2 100% – White Martins, Brasil). A seguir, o conteúdo dos frascos foi filtrado e centrifugado (3000 rpm) por 30s. O sobrenadante foi removido e as células foram suspendidas na solução 750 μM de CaCl_2 (solução A, item 3.7). Esse processo foi repetido 2 vezes. As células foram armazenadas em placas de vidro a 5°C, até serem utilizadas. Durante os

experimentos de microscopia confocal somente as células tolerantes ao Ca^{2+} , quiescentes e apresentando formato e estrias transversais bem definidas foram utilizadas. Os registros foram sempre feitos entre uma e seis horas após o isolamento.

3.7- Soluções de isolamento:

As soluções utilizadas para o isolamento dos cardiomiócitos ventriculares foram feitas usando-se uma solução básica com água milli-Q e a seguinte composição (em mM): NaCl (130) – 7,6 g/l; MgCl_2 (1,43) – 0,28 g/l; KCl (5,4) – 0,4 g/l; (HEPES) (5) – 0,062 g/l; glicose (10) – 1,8 g/l; taurina (20) – 2,38 g/l; creatina (10) – 1,3 g/l; pH = 7,3; temperatura ambiente.

Solução A: Para se fazer a solução de isolamento contendo Ca^{2+} , foram adicionados 375 μL de CaCl_2 (1 M) em 500 mL da solução básica.

Solução B: Para a solução de isolamento livre de Ca^{2+} , foram adicionados 250 μL de EGTA (100 mM) em 250 mL da solução básica.

Solução C: Para a solução enzimática de isolamento, foram adicionados 20 mg de colagenase e 15 μL de CaCl_2 (100 mM) em 20 ml da solução básica.

Solução D: Para a solução com 1% de albumina bovina, foram adicionados 500 mg de albumina sérica bovina em 5 mL de solução básica. Após o isolamento, 1 mL de solução com albumina foi adicionado para cada 10 mL da solução enzimática C.

3.8- Solução tampão HEPES:

Para os procedimentos de medida e análise das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} , os cardiomiócitos foram incubados com uma solução fisiológica contendo (em mM): solução estoque: NaCl (113) – 65,99 g/L; HEPES (5) – 11,9 g/L; NaH_2PO_4 (1) – 1,42 g/L; MgSO_4 (1) – 2,46 g/L; KCl (5) – 3,72 g/L; solução sopa: Na acetato (20) – 16,4 g/100 mL; glicose (10) – 18,1 g/100ml; insulina (5 u/L) – 0,5 g/100 mL. Para fazer um litro desta solução, foram adicionados 100 mL da solução estoque, 10 mL da solução sopa e 1 mL de CaCl_2 (1) em água mili-Q. Esta solução foi equilibrada para um pH= 7,4 e mantida em temperatura ambiente.

3.9- Medida e análise das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} :

Para as medidas das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} os cardiomiócitos isolados dos grupos experimentais foram incubados com o indicador fluorescente de Ca^{2+} , permeável à membrana plasmática, Fluo-4 acetoximetil-éster (Fluo-4 AM, Molecular Probes, Eugene, OR, USA). O Fluo-4 AM (5 μM) foi preparado em uma solução a base de DMSO, (30 μL de DMSO em 50 μg de Fluo-4 AM). As células foram incubadas com 5 μL de Fluo-4 AM em 500 μL de célula durante 20 min à temperatura ambiente. Após, as células foram lavadas e suspendidas em solução tampão HEPES (item 3.8), para remover o excesso da sonda fluorescente. Quando esta sonda está ligada ao Ca^{2+} e é excitada com o comprimento de onda de 488 nm emite um sinal de fluorescência medido a 510 nm, que se relaciona às variações de Ca^{2+} sarcoplasmática. Tais variações foram expressas em relação à razão: F/F_0 , onde F_0 representa a fluorescência basal de Ca^{2+} , ou seja, os ruídos do fundo da imagem (*background noise*) e F representa a fluorescência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} em um dado momento de ocorrência, nos cardiomiócitos sem estímulo prévio. O procedimento para determinar F_0 consiste em duas etapas. Primeiro, selecionamos a *spark* espontânea de Ca^{2+} a ser analisada e identificamos o valor mínimo da imagem de fundo das *sparks* através das opções (*Analyze – Histogram*) no programa ImageJ. Segundo, inserimos o valor mínimo da imagem de fundo obtida, na opção *background* no programa *SparkMaster*. Este procedimento foi feito para cada imagem analisada.

As imagens de microscopia confocal foram feitas usando um microscópio confocal Zeiss LSM 510 Meta (Zeiss GmbH, Jena, Alemanha), no Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa. Para a aquisição das imagens foi utilizada uma lente objetiva de imersão a óleo (63x). Os sinais de fluorescência foram obtidos por meio de varredura em linha (*Line Scan Mode*). A linha de varredura (512 pixels) foi posicionada aleatoriamente no eixo longitudinal da célula, com o cuidado de não cruzar regiões de núcleos. A varredura foi feita por meio de um laser de argônio (488 nm). As varreduras foram repetidas a cada 1,54 ms, sendo utilizadas para a criação de imagens (tempo no eixo x e fluorescência no eixo y). Antes do registro das imagens as células foram estimuladas na frequência de 1 Hz por aproximadamente 40s. Após este tempo a estimulação foi cessada e os registros foram feitos com a célula em repouso.

Foram obtidas 10 imagens por célula, sendo que estas foram analisadas utilizando-se a interface gráfica *SparkMaster*, programa de análise de *sparks* inserido no software livre *ImageJ* (Picht et al., 2007). O *SparkMaster* é um programa automatizado que foi desenvolvido e adaptado a partir de algoritmos específicos para análises das *sparks* medidas por microscopia confocal (Cheng et al., 1999). Neste tipo de análise, o algoritmo identifica os sinais de fluorescência baseado nos seus desvios a partir do ruído de fundo da imagem original *background noise*. Assim, a imagem original é filtrada, normalizada e a média e o desvio-padrão do plano de fundo são calculados. As regiões da imagem excedendo 1,5 x desvio-padrão a partir do plano de fundo são utilizadas para a construção de uma linha de base e para a normalização da imagem total. Esta última imagem, normalizada, é utilizada para a detecção e análise das *sparks* de Ca^{2+} , de forma que os eventos com áreas (em pixel) excedendo um limiar de detecção pré-estabelecido (3,0 x desvio-padrão acima da média) são considerados possíveis *sparks*. A média e o desvio-padrão são calculados subtraindo-se as *sparks* em potencial. Após estes procedimentos, as possíveis *sparks* são consideradas para análise se as áreas contendo valores acima do limiar de detecção pré-estabelecido contêm valores de pixel que excedem o seguinte critério: desvio-padrão x fator de limiar + média do *background*. O fator de limiar é escolhido pelo usuário, sendo que, baseado em resultados anteriores (Picht et al., 2007), o fator adotado no presente trabalho foi 3,8. A velocidade de varredura (*scanning speed*) e o tamanho do pixel (*pixel size*) foram 800 lps e 0,14 μm , respectivamente.

As variáveis analisadas a partir do *SparkMaster* foram:

- 1) Frequência das *sparks* ($\text{sparks} \times 100 \mu\text{m}^{-1} \times \text{s}^{-1}$).
- 2) Amplitude das *sparks* ($\Delta F/F_0$) – Que corresponde à diferença entre o pico de fluorescência das *sparks* e a fluorescência do fundo (*background*);
- 3) Largura total da *spark* na metade da amplitude máxima (FWHM em μm);
- 4) Duração total da *spark* na metade da amplitude máxima (FDHM em ms);
- 5) Largura total da *spark* (em μm);
- 6) Duração total da *spark* (em ms);

- 7) Tempo até o pico da *spark* (T_{pico} em ms);
- 8) Inclinação máxima da fase ascendente da *spark* (I_{max} em $\Delta F/F_0/s$);
- 9) Constante de tempo de decaimento da *spark* (τ em ms);

Após a obtenção dos dados, foram construídos histogramas de frequência e os dados das distribuições das *sparks* foram comparados entre os grupos experimentais.

3.10- Análise Estatística:

Para a escolha dos testes estatísticos foi feita previamente uma análise da normalidade de cada variável medida. As diferenças entre os grupos experimentais em relação ao peso corporal, ao peso do coração, ao peso dos ventrículos, pressão arterial sistólica e frequência cardíaca foram analisadas por meio de análise de variância (ANOVA two-way), com o teste post-hoc de Tukey. Para a análise da frequência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} , foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos dados. Após este procedimento foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis que corresponde à uma análise de variância não paramétrica, seguido do teste de Dunn para comparações múltiplas entre os grupos. As diferenças na distribuição das características morfológicas das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} foram verificadas através do teste de Kolmogorov-Smirnov. Este teste avalia a distribuição dos valores de dois vetores (x_1 e x_2). No presente estudo avaliamos a distribuição de 2 grupos de dados sendo que um era determinado como sendo o controle (x_1). A hipótese nula é que x_1 e x_2 pertencem à mesma distribuição contínua. A hipótese alternativa é que eles pertencem à diferentes distribuições contínuas. O resultado indica se o teste rejeita ou não a hipótese nula ao nível de significância de α (Massey, 1951). As análises foram realizadas com o auxílio dos softwares Sigma Plot 11.0 e Matlab R2010a. Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão da média, exceto para os parâmetros de frequência e distribuição das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} , que são apresentados como mediana, e primeiro, segundo e terceiro quartis da mediana para as tabelas em anexo. O nível de significância adotado foi de $\alpha= 5\%$.

4- RESULTADOS:

4.1- Peso corporal, peso do coração e peso dos ventrículos:

Os resultados referentes ao peso corporal, peso do coração, peso dos ventrículos, peso relativo do coração e peso relativo dos ventrículos estão apresentados nas tabelas 2 e 3.

Tabela 2. Peso corporal, peso do coração, peso dos ventrículos, peso do ventrículo esquerdo e peso do ventrículo direito dos animais.

Grupos	Peso corporal (g)	Peso do coração (g)	Peso dos ventrículos (g)	Peso do ventrículo esquerdo (g)	Peso do ventrículo direito (g)
NS	427±13	2,14±0,09	1,69±0,11	1,32±0,09	0,30±0,03
NT	423±12	1,96±0,08	1,97±0,10	1,48±0,08	0,36±0,03
HS	415±12	1,99±0,08	1,93±0,10	1,48±0,08	0,43±0,03 ^c
HT	382±11	2,01±0,08	2,04±0,10	1,51±0,08	0,42±0,02
NSD	426±14	1,96±0,07	1,68±0,09	1,33±0,05	0,30±0,02
ND	458±14	2,07±0,07	1,87±0,08	1,41±0,05	0,35±0,02
HSD	417±13	2,14±0,07	1,83±0,08	1,39±0,05	0,35±0,02
HD	441±15	2,03±0,07	2,12±0,10 ^a	1,59±0,06 ^{a,b}	0,38±0,03

Os dados são expressos como média ± erro padrão da média. NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. (a) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HSD; (b) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo ND; (c) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NS.

Como mostrado na tabela 2, não foram observadas diferenças em relação ao peso corporal e peso do coração entre os grupos. Em relação ao peso dos ventrículos, os ratos do grupo HD apresentaram o peso dos ventrículos significativamente maior quando comparados aos do grupo HSD. Não foram observadas diferenças entre os demais grupos para o peso dos ventrículos. Em relação ao peso do VE, os ratos do grupo HD apresentaram o peso do VE maior em relação aos dos grupos ND e HSD ($p < 0,05$). Não foram observadas diferenças entre os demais grupos para este parâmetro. Em relação ao peso do VD, os ratos do grupo HS apresentaram o peso do VD significativamente maior em relação aos do grupo NS. Não foram observadas diferenças entre os demais grupos para o peso do VD.

A tabela 3 apresenta os pesos relativos do coração, ventrículos, VE e VD.

Tabela 3. Peso relativo do coração, peso relativo dos ventrículos, peso relativo do ventrículo esquerdo e peso relativo do ventrículo direito.

Grupos	Peso relativo do coração (mg/cm)	Peso relativo dos ventrículos (mg/cm)	Peso relativo do ventrículo esquerdo (mg/cm)	Peso relativo do ventrículo direito (mg/cm)
NS	503±21	398±25	310±19	72±7
NT	471±19	474±23 ^a	356±18	87±6
HS	490±19	473±23 ^a	365±18	108±6 ^a
HT	503±18	511±23	376±17	105±6 ^d
NSD	463±18	400±20	313±14	72±6
ND	492±18	442±20	334±14	83±6
HSD	521±17	446±19	337±13	86±6
HD	489±18	511±22 ^{b,c}	384±15 ^{b,c}	94±7

Os dados são expressos como média ± erro padrão da média. Os pesos relativos são medidos pelo peso do coração, ventrículos, ventrículos esquerdo e direito em relação ao comprimento da tibia esquerda dos ratos; NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. (a) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NS; (b) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HSD; (c) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo ND; (d) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HS;

Em relação ao peso relativo do coração, não foram observadas diferenças entre os grupos experimentais. Em relação ao peso relativo do VE, os ratos dos grupos HS e NT apresentaram pesos relativos dos ventrículos maiores em relação aos do grupo NS ($p < 0,05$). Os ratos do grupo HD apresentaram um peso relativo dos ventrículos significativamente maior quando comparado aos ratos dos grupos HSD e ND. Não foram observadas diferenças entre os demais grupos para este parâmetro. Em relação ao peso relativo do VE, os ratos do grupo HD apresentaram um peso relativo do VE significativamente maior quando comparados aos do grupo ND. Não foram observadas diferenças entre os demais grupos para o peso relativo do VE. Em relação ao peso relativo do VD, os ratos do grupo HS apresentaram um peso relativo do VD significativamente maior comparados aos do grupo NS. Os ratos do grupo HT apresentaram um peso relativo do VD significativamente menor quando comparados aos do grupo HS. Não foram observadas diferenças entre os demais grupos para o peso relativo do VD.

4.2- Pressão arterial sistólica, frequência cardíaca de repouso e tempo total até a fadiga:

Os resultados referentes à pressão arterial sistólica, FC de repouso e tempo total de exercício até a fadiga (TTF) estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4. Pressão arterial sistólica inicial e final, frequência cardíaca de repouso inicial e final e tempo total de exercício até a fadiga.

Grupos	PAS inicial (mmHg)	PAS final (mmHg)	FC inicial (bpm)	FC final (bpm)	TTF (min)
NS	110±3	107±3	328±8	330±11	11,36±1,54
NT	112±3	110±3	340±8	322±10*	22,45±1,42 ^a
HS	155±3 ^a	151±3 ^a	359±8 ^a	352±11	11,65±1,42
HT	154±3 ^b	144±2 ^{*b c}	369±8 ^b	344±10*	24,48±1,33 ^c
NSD	110±4	110±5	353±10	375±13	11,39±1,19
ND	111±4	114±5	356±13	347±13	14,37±1,10
HSD	155±4 ^c	154±4 ^c	359±9	373±10*	11,67±1,10
HD	150±4 ^d	152±5 ^d	407±12	393±13 ^{*d}	14,83±1,10

Os dados são expressos como média ± erro padrão da média. NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. PAS inicial= valores iniciais da pressão arterial sistólica; PAS final= valores finais da pressão arterial sistólica; FC inicial= valores iniciais de frequência cardíaca de repouso; FC final= valores finais de frequência cardíaca de repouso; TTF= tempo total de exercício até a fadiga. (*) indica diferença (p<0,05) em relação aos valores iniciais para determinado grupo (a) indica diferença (p<0,05) em relação ao grupo NS; (b) indica diferença (p < 0,05) em relação ao grupo NT; (c) indica diferença (p<0,05) em relação ao grupo NSD; (d) indica diferença (p<0,05) em relação ao grupo ND; (e) indica diferença (p<0,05) em relação ao grupo HS.

Como mostrado na tabela 4 os ratos dos grupos HS e HT tiveram a pressão arterial sistólica inicial e final significativamente maior em relação aos grupos NS e NT, respectivamente. Foi observada uma redução significativa na pressão arterial no grupo HT. Os ratos dos grupos HSD e HD tiveram a pressão arterial sistólica inicial e final significativamente maior em relação aos dos grupos NSD e ND, respectivamente. Em relação à FC, os resultados mostram que os ratos dos grupos HS e HT tiveram a FC de repouso inicial maior em relação aos dos grupos NS e NT, respectivamente (p<0,05). Foi observada ainda uma redução na FC de repouso nos grupos NT e HT (p<0,05). Os ratos do grupo HD tiveram uma FC de repouso final significativamente maior em relação aos do grupo ND. Foi

observado ainda um aumento na FC de repouso no grupo HSD e uma redução na FC de repouso no grupo HD ($p < 0,05$).

Em relação ao TTF, os resultados mostram que os ratos dos grupos NT e HT tiveram o tempo total até a fadiga significativamente maior em relação aos dos grupos NS e HS, respectivamente.

4.3- *Sparks* espontâneas de Ca^{2+} .

O número de células e de *sparks* espontâneas de Ca^{2+} por grupo estão apresentados na tabela 5.

Tabela 5. Número de células e de *sparks* espontâneas de Ca^{2+} .

Grupos	Nº de células			Nº de <i>sparks</i> espontâneas		
	END	EPI	VD	END	EPI	VD
NS	22	38	36	658	1388	829
NT	31	37	29	651	752	588
HS	45	53	50	2462	2511	3367
HT	41	55	40	1501	2627	1086
NSD	36	39	34	2479	2335	1873
ND	34	36	37	1405	1391	1039
HSD	42	42	42	2543	852	1087
HD	49	53	53	1992	1440	2316

NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. END= região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= ventrículo direito. Nº de células= número de células analisadas em cada região ventricular. Nº de *sparks* espontâneas= número de *sparks* espontâneas de Ca^{2+} em 10 registros de imagem por célula.

As figuras representativas das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} estão apresentadas na figura 1.

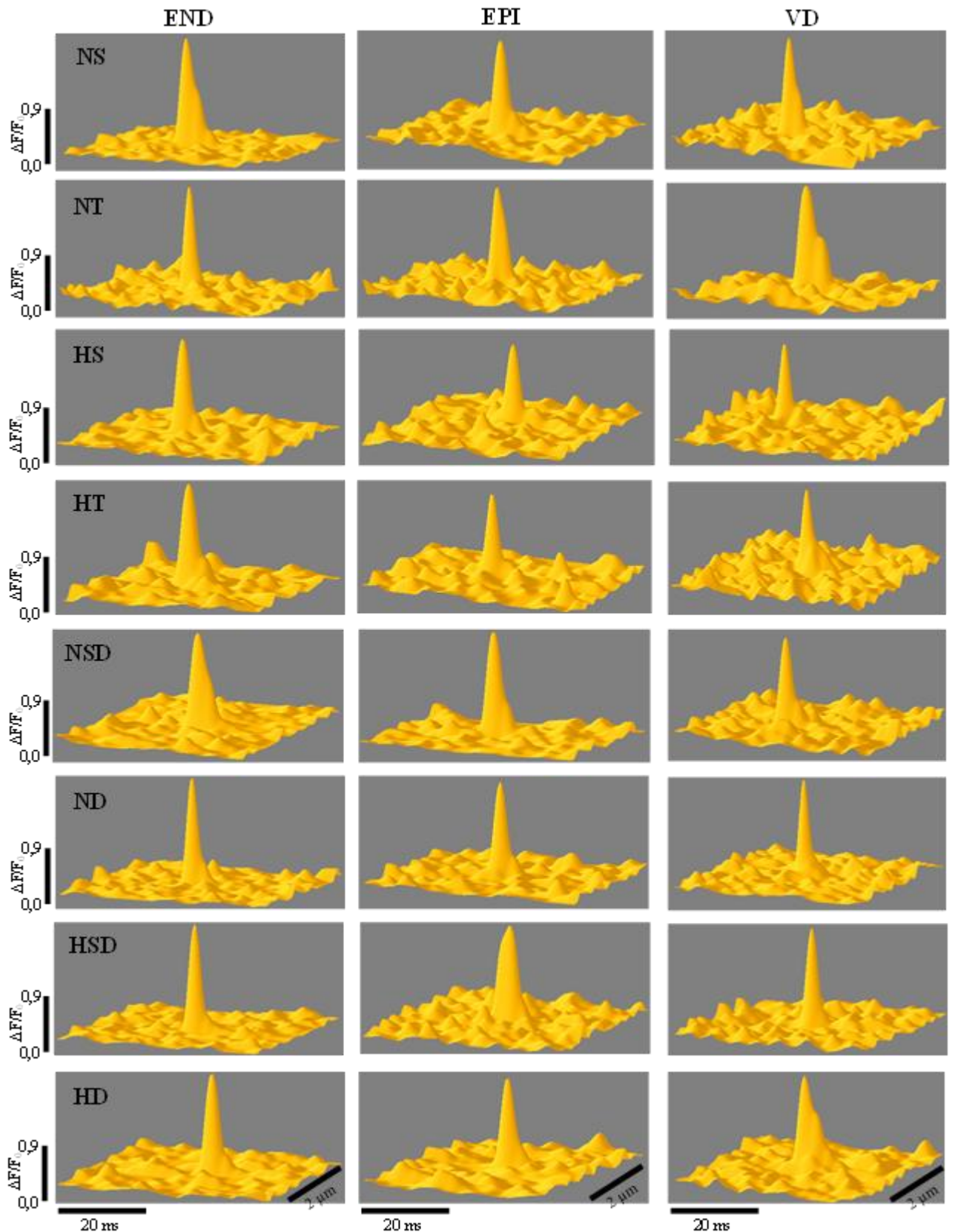
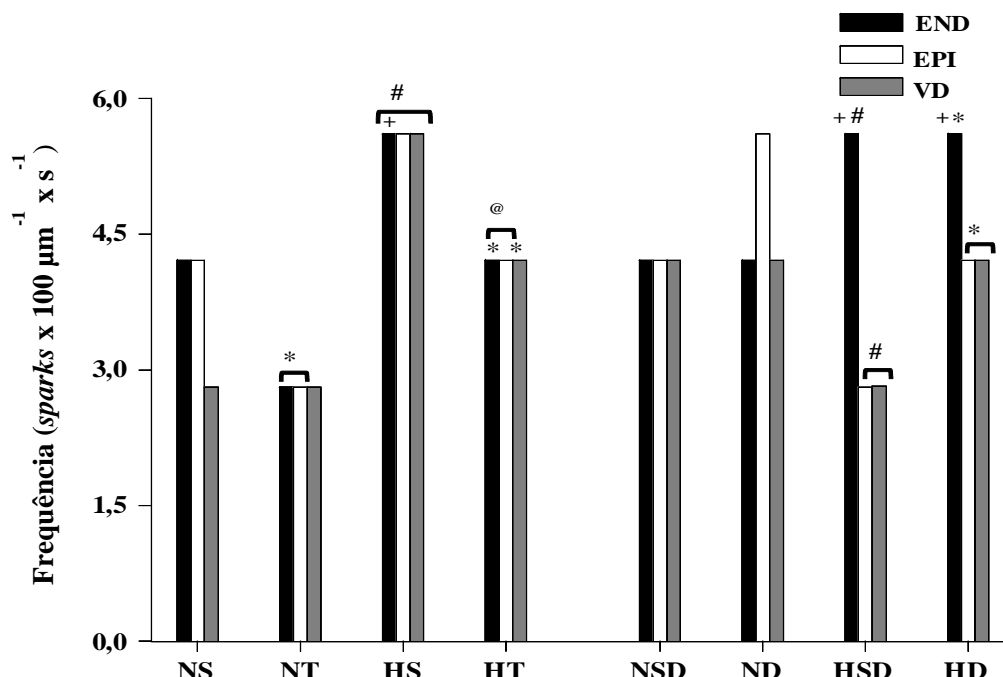


Figura 1. Figuras representativas das *sparks* espontâneas de Ca²⁺ nos cardiomiócitos dos ratos normotensos sedentários (NS), normotensos treinados (NT), hipertensos sedentários (HS), hipertensos treinados (HT), normotensos sedentários por 12 semanas (NSD), normotensos destreinados (ND), hipertensos sedentários por 12 semanas (HSD) e hipertensos destreinados (HD). END= células da região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= células da região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= células do ventrículo direito.

4.3.1- Frequência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} :

Os resultados referentes à frequência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} estão apresentados no gráfico 1 e Tabela 6 em anexo.

Gráfico 1. Frequência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} .



Os dados são expressos como mediana. NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. END= região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= ventrículo direito. (*) indica diferença ($p < 0,05$) em relação aos grupos NS e HS / NSD e HSD; (#) indica diferença ($p < 0,05$) em relação aos grupos NS / NSD; (@) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NT; (+) indica diferença ($p < 0,05$) em relação à região EPI;

Hipertensão. Para observar os efeitos da hipertensão sobre a frequência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} , foram comparados os grupos HS e HSD com os grupos NS e NSD, respectivamente. Os resultados mostram que a frequência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} foi significativamente maior no grupo HS quando comparado ao grupo NS nas regiões END, EPI e VD. Em contrapartida foi observado que a frequência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} foi menor no grupo

HSD em relação ao grupo NSD nas regiões EPI e VD ($p < 0,05$) e foi maior na região END.

Treinamento físico. Para estudar os efeitos do treinamento físico sobre a frequência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} , foram comparados os grupos NT e HT com os grupos NS e HS, respectivamente. Foi observada uma redução da frequência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} no grupo NT em relação ao grupo NS nas regiões END e EPI ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa na frequência das *sparks* entre estes grupos para o VD. Em relação aos animais hipertensos, foi observada uma redução da frequência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} no grupo HT em relação ao grupo HS nas regiões END e VD. Não houve diferença significativa na frequência das *sparks* entre estes grupos para a região EPI. Em relação ao grupo HT vs. NT, os cardiomiócitos do HT apresentaram a frequência das *sparks* espontâneas significativamente maior em relação ao NT nas regiões END e EPI. Não houve diferença significativa na frequência das *sparks* entre estes grupos para o VD.

Destreinamento físico. Para verificar os efeitos do destreinamento sobre a frequência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} , foram comparados os grupos ND e HD com os grupos NSD e HSD, respectivamente. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa na frequência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} entre o grupo ND em comparação ao grupo NSD em nenhuma das regiões estudadas. Em relação aos grupos HD e HSD, foi observado que os cardiomiócitos dos animais do grupo HD apresentaram uma menor frequência das *sparks* espontâneas em relação ao grupo HSD, na região END e, contrariamente, esta foi maior nas regiões EPI e VD ($p < 0,05$). Comparando os grupos HD e ND, foi observada uma maior frequência das *sparks* espontâneas nos cardiomiócitos dos animais do grupo HD em relação ao do grupo ND nas regiões END e VD ($p < 0,05$). Em contrapartida, foi observada uma menor frequência das *sparks* espontâneas na região EPI do grupo HD em relação ao grupo ND ($p < 0,05$).

Efeitos regionais. Em relação às diferenças entre as regiões do ventrículo esquerdo, a frequência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} dos cardiomiócitos da região END foi significativamente maior em relação à região EPI nos ratos dos grupos HS, HSD e HD.

4.3.2- Amplitude das sparks:

Os resultados referentes à amplitude das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} estão apresentados na figura 2, gráfico 2 e na tabela 7 em anexo.

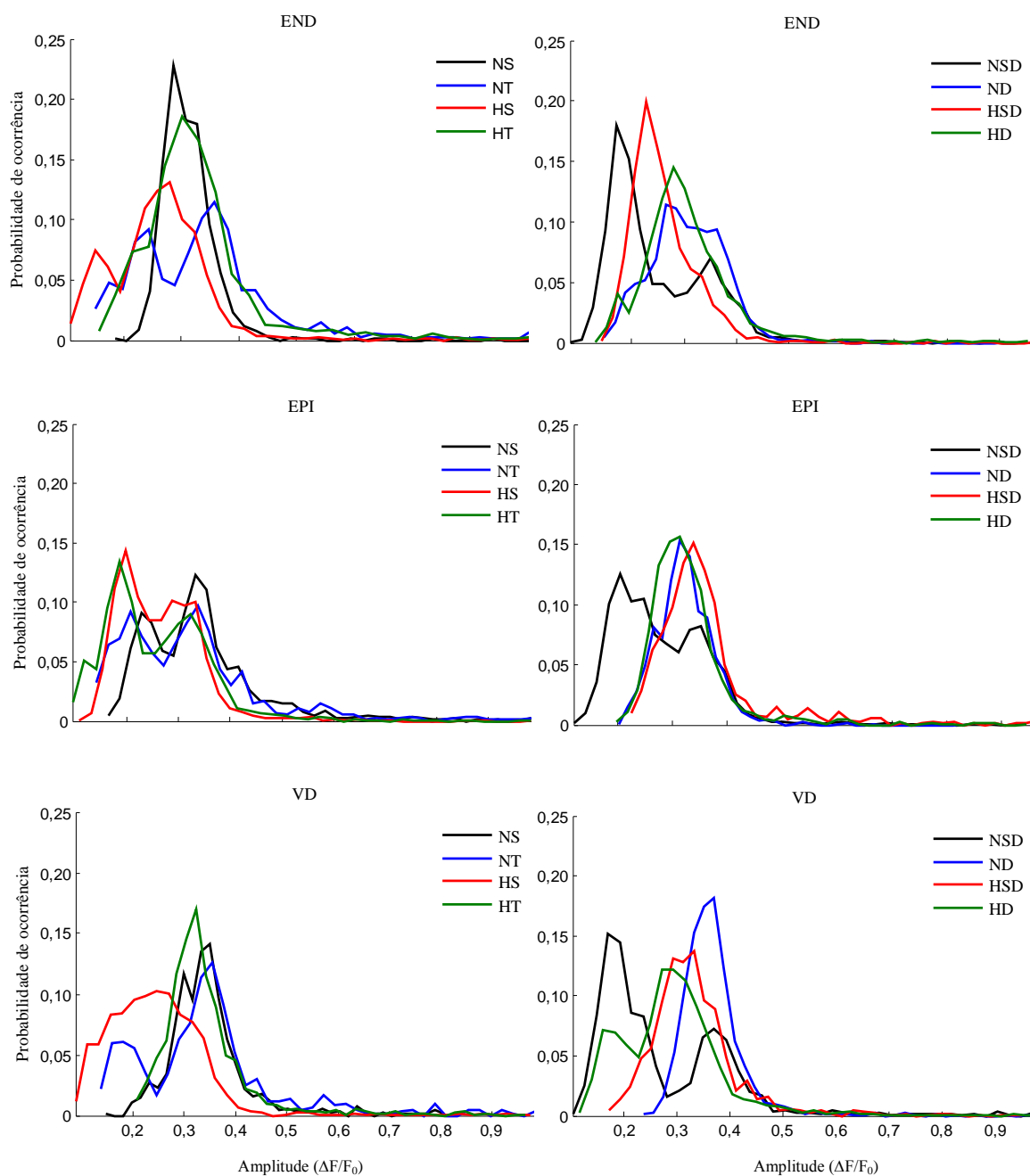
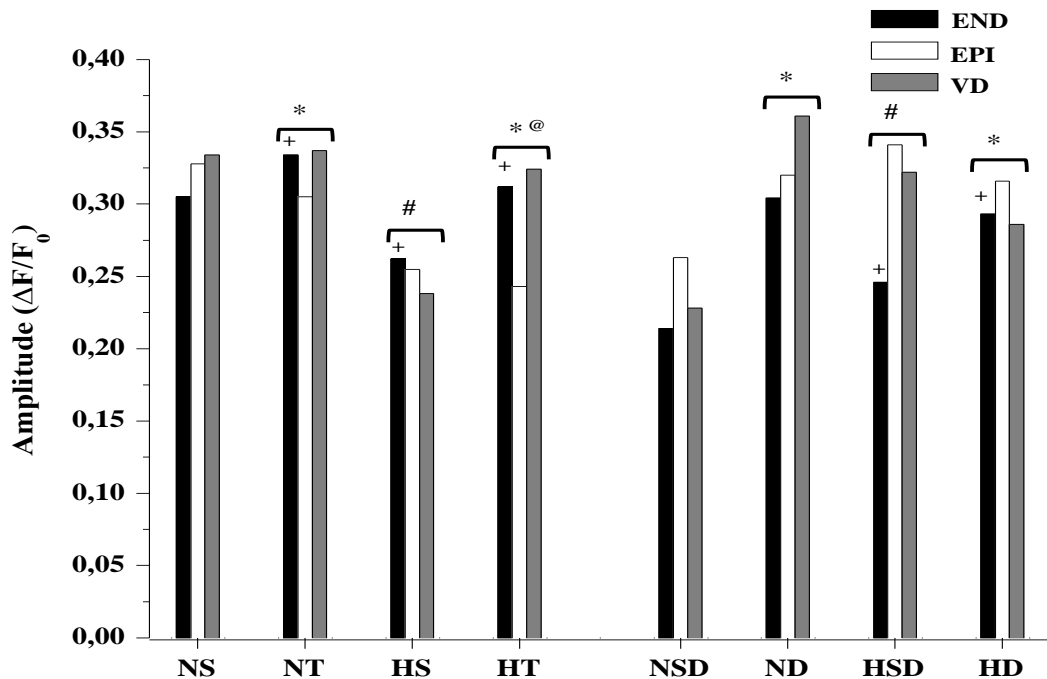


Figura 2. Histogramas da amplitude das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} nos cardiomiócitos dos ratos normotensos sedentários (NS), normotensos treinados (NT), hipertensos sedentários (HS), hipertensos treinados (HT), normotensos sedentários por 12 semanas (NSD), normotensos destreinados (ND), hipertensos sedentários por 12 semanas (HSD) e hipertensos destreinados (HD). END= células da região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= células da região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= células do ventrículo direito.

Gráfico 2. Amplitude das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} .



Os dados são expressos como mediana. NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. END= região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= ventrículo direito. (*) indica diferença ($p < 0,05$) em relação aos grupos NS e HS / NSD e HSD; (#) indica diferença ($p < 0,05$) em relação aos grupos NS / NSD; (@) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NT; (+) indica diferença ($p < 0,05$) em relação à região EPI;

Hipertensão. Para observar os efeitos da hipertensão sobre a amplitude das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} , os grupos HS e HSD foram comparados com os grupos NS e NSD, respectivamente. A amplitude das *sparks* espontâneas do grupo HS foi significativamente menor em relação ao grupo NS em todas as regiões ventriculares. Contrário a isto, a amplitude foi significativamente maior no grupo HSD quando comparado ao grupo NSD em todas as regiões ventriculares.

Treinamento físico. Para estudar os efeitos do treinamento físico sobre a amplitude das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} , os grupos NT e HT foram comparados com os grupos NS e HS, respectivamente. Os resultados mostraram que a amplitude foi maior no grupo NT em relação ao grupo NS nas regiões END e VD e menor na região EPI ($p < 0,05$). Em relação aos grupos HS e HT, foi observado

que a amplitude das *sparks* espontâneas foi maior nos animais do grupo HT em relação ao grupo HS nas regiões END e VD e menor na região EPI ($p < 0,05$). Em relação aos grupos HT e NT, o grupo HT apresentou a amplitude menor em relação ao grupo NT nas regiões END e EPI e maior no VD ($p < 0,05$).

Destreinamento físico. Para verificar os efeitos do destreinamento sobre a amplitude das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} foram comparados os grupos ND e HD com os grupos NSD e HSD, respectivamente. Os resultados mostraram que a amplitude foi significativamente maior no grupo ND em relação ao NSD em todas as regiões ventriculares. Em relação aos grupos HD e HSD, foi observado que a amplitude foi significativamente menor no grupo HD em relação ao HSD nas regiões EPI e VD e maior na região END. Comparando os grupos HD e ND, foi observado que a amplitude foi significativamente menor no grupo HD em relação ao grupo ND, em todas as regiões ventriculares.

Diferenças regionais. Em relação às diferenças entre as regiões do VE, a amplitude das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} da região END foi significativamente maior em relação à região EPI nos grupos NT e HT. Em contrapartida, a amplitude das *sparks* espontâneas da região END foi significativamente menor em relação à região EPI nos grupos NS, NSD, ND, HSD e HD.

4.3.3- Largura total da *spark* na metade da amplitude máxima (FWHM):

Os resultados referentes à FWHM estão apresentados na figura 3, gráfico 3 e na tabela 8 em anexo.

Hipertensão. Para observar os efeitos da hipertensão sobre a FWHM, foram comparados os grupos HS e HSD com os grupos NS e NSD, respectivamente. Os resultados mostraram que a FWHM do grupo HS foi significativamente menor em relação ao grupo NS, em todas as regiões ventriculares. Contrário a isto, a FWHM foi significativamente maior no grupo HSD quando comparado aos do grupo NSD, em todas as regiões ventriculares.

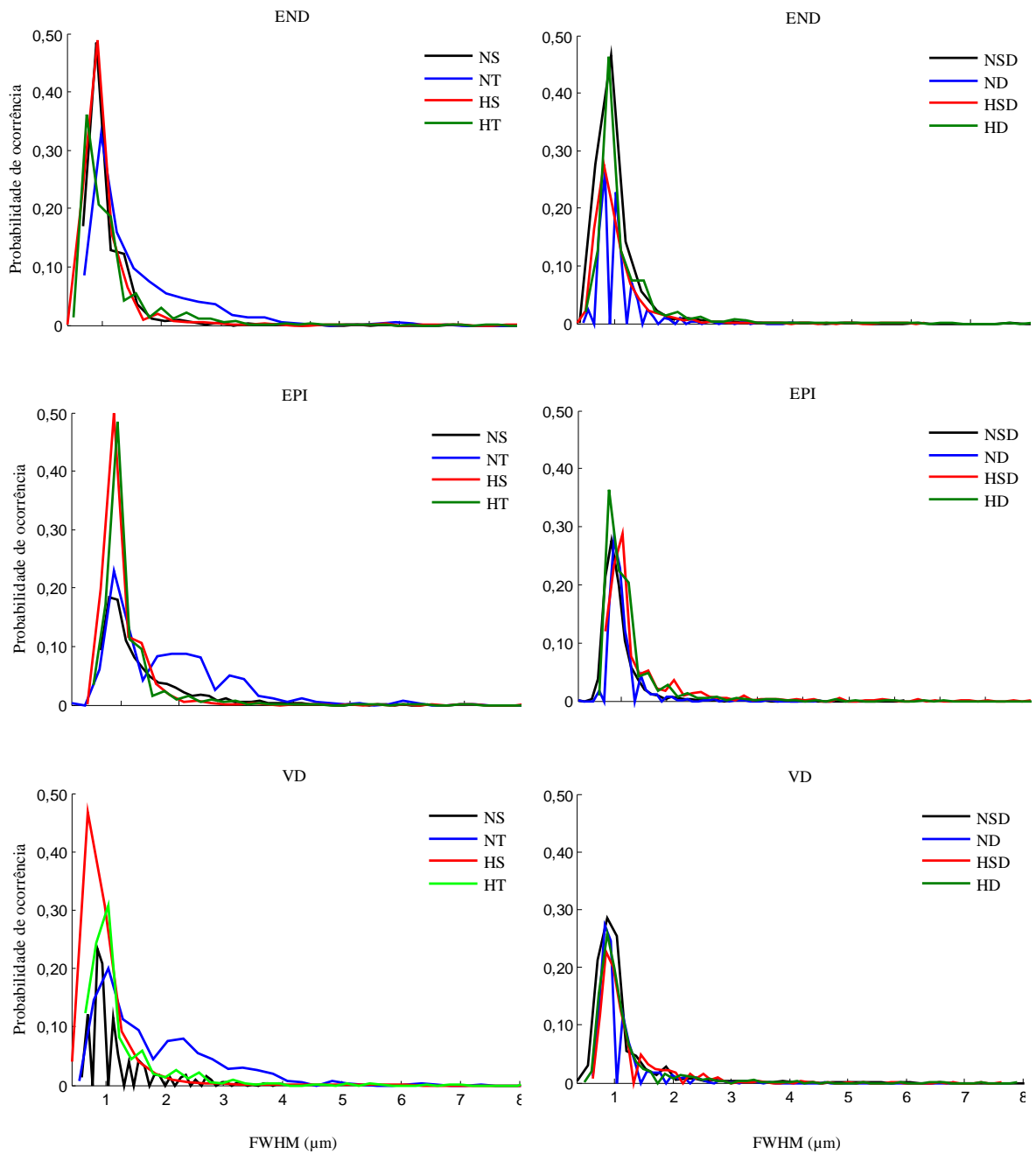
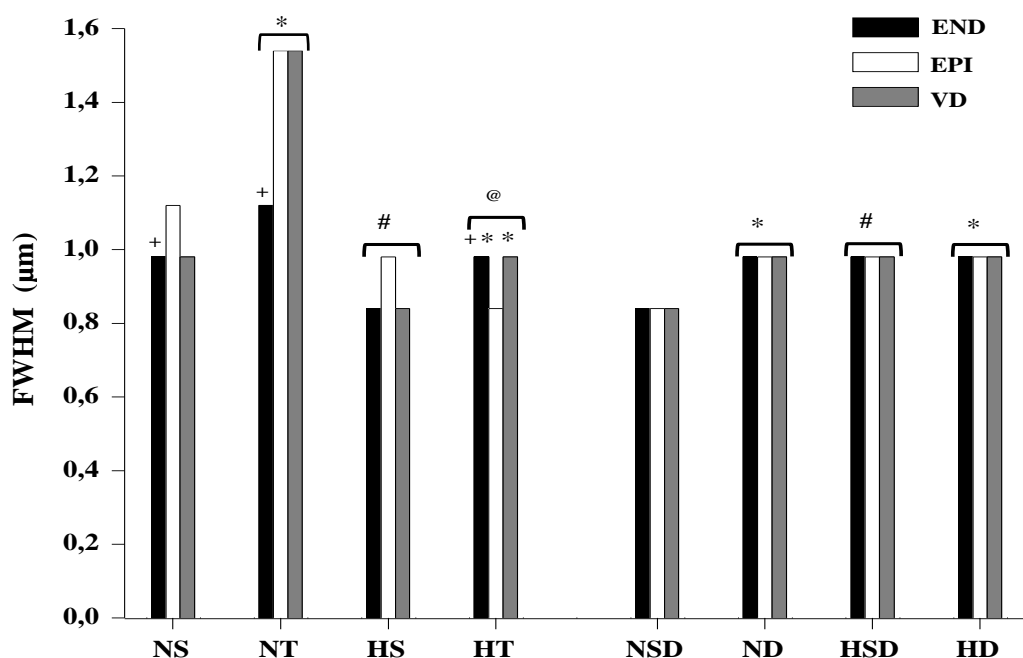


Figura 3. Histogramas da largura total da *spark* na metade da amplitude máxima (FWHM) (μm) nos cardiomiócitos dos ratos normotensos sedentários (NS), normotensos treinados (NT), hipertensos sedentários (HS), hipertensos treinados (HT), normotensos sedentários por 12 semanas (NSD), normotensos destreinados (ND), hipertensos sedentários por 12 semanas (HSD) e hipertensos destreinados (HD). END= células da região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= células da região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= células do ventrículo direito.

Gráfico 3. Largura total da *spark* na metade da amplitude máxima.



Os dados são expressos como mediana. FWHM= largura total da *spark* na metade da amplitude máxima; NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. END= região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= ventrículo direito. (*) indica diferença ($p < 0,05$) em relação aos grupos NS e HS / NSD e HSD; (#) indica diferença ($p < 0,05$) em relação aos grupos NS / NSD; (@) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NT; (+) indica diferença ($p < 0,05$) em relação à região EPI;

Treinamento físico. Para estudar os efeitos do treinamento físico sobre a FWHM, foram comparados os grupos NT e HT com os grupos NS e HS, respectivamente. Foi observado que a FWHM foi significativamente maior no grupo NT em relação ao grupo NS, em todas as regiões ventriculares. De acordo com os resultados, a FWHM foi significativamente maior no grupo HT em relação ao HS nas regiões END e VD. Não houve diferença significativa entre os grupos para região EPI. Em relação aos grupos HT e NT, o grupo HT apresentou a FWHM significativamente menor em relação ao NT, em todas as regiões ventriculares.

Destreinamento físico. Para verificar os efeitos do destreinamento sobre a FWHM, foram comparados os grupos ND e HD com os grupos NSD e HSD, respectivamente. Foi observado que a FWHM foi significativamente maior no grupo ND em relação ao NSD, em todas as regiões ventriculares. Em relação aos grupos HD e HSD, foi observado que a FWHM foi maior no grupo HD em relação ao HSD na região END e menor nas regiões EPI e VD ($p < 0,05$). Comparando os grupos HD e ND, foi observado que a FWHM foi maior no grupo HD em relação ao grupo ND nas regiões END e EPI ($p < 0,05$).

Diferenças regionais. Em relação às diferenças entre as regiões do VE, a FWHM da região END foi menor em relação à região EPI nos grupos NS e NT e maior no grupo HT, ($p < 0,05$).

4.3.4- Duração total da *spark* na metade da amplitude máxima (FDHM):

Os resultados referentes à FDHM estão apresentados na figura 4, gráfico 4 e tabela 9 em anexo.

Hipertensão. Para observar os efeitos da hipertensão sobre a FDHM foram comparados os grupos HS e HSD com os grupos NS e NSD, respectivamente. Os resultados mostraram que a FDHM do grupo HS foi significativamente menor em relação ao grupo NS nas regiões EPI e VD. Não houve diferença significativa entre os grupos na região END. A FDHM foi significativamente maior no grupo HSD quando comparado com o grupo NSD, em todas as regiões ventriculares.

Treinamento físico. Para estudar os efeitos do treinamento físico sobre a FDHM, foram comparados os grupos NT e HT com os grupos NS e HS, respectivamente. Os resultados mostraram que a FDHM foi significativamente maior no grupo NT em relação ao grupo NS, em todas as regiões ventriculares. Em relação aos grupos HT e HS, a FDHM foi significativamente maior no grupo HT em relação ao grupo HS nas regiões END e VD. Não houve diferença significativa entre os grupos na região EPI. Em relação aos grupos HT e NT, o grupo HT apresentou a FDHM significativamente menor em relação ao grupo NT, em todas as regiões ventriculares.

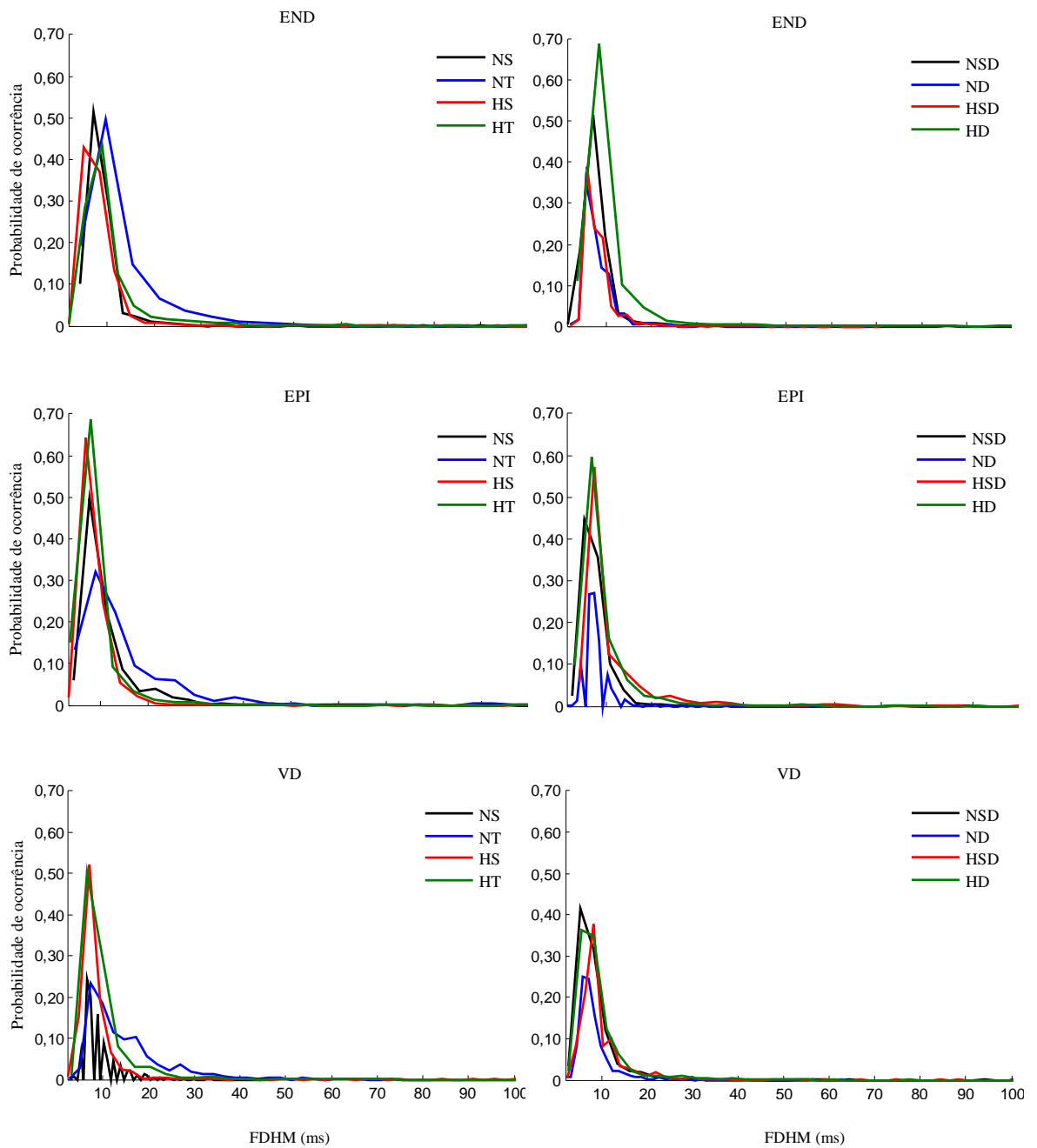
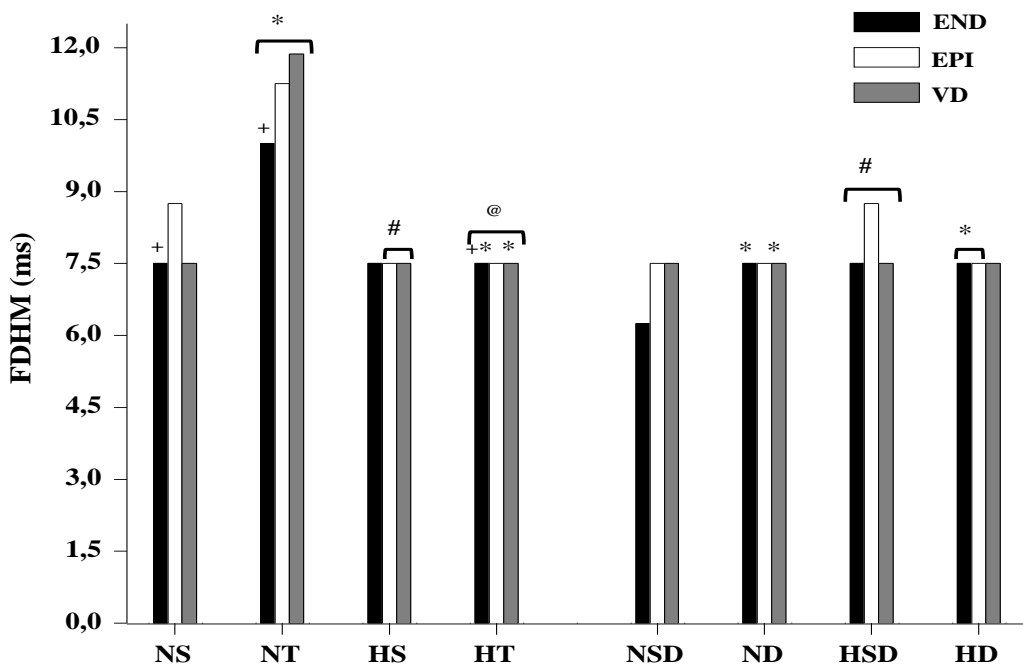


Figura 4. Histogramas da duração total das *sparks* na metade da amplitude máxima (FDHM) (ms) nos cardiomiócitos dos ratos normotensos sedentários (NS), normotensos treinados (NT), hipertensos sedentários (HS), hipertensos treinados (HT), normotensos sedentários por 12 semanas (NSD), normotensos destreinados (ND), hipertensos sedentários por 12 semanas (HSD) e hipertensos destreinados (HD). END= células da região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= células da região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= células do ventrículo direito.

Gráfico 4. Duração total da *spark* na metade da amplitude máxima.



Os dados são expressos como mediana. FDHM= duração total da *spark* na metade da amplitude máxima; NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. END= região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= ventrículo direito. (*) indica diferença ($p < 0,05$) em relação aos grupos NS e HS / NSD e HSD; (#) indica diferença ($p < 0,05$) em relação aos grupos NS / NSD; (@) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NT; (+) indica diferença ($p < 0,05$) em relação à região EPI;

Destreinamento físico. Para verificar os efeitos do destreinamento sobre a FDHM, foram comparados os grupos ND e HD com os grupos NSD e HSD, respectivamente. Os resultados mostraram que a FDHM foi significativamente maior no grupo ND em relação ao grupo NSD nas regiões END e VD. Não houve diferença significativa entre os grupos na região EPI. Em relação aos grupos HD e HSD foi observado que a FDHM foi menor no grupo HD em relação ao grupo HSD na região EPI e foi maior na região END ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa entre os grupos no VD. Comparando os grupos HD e ND, foi observado que a FDHM foi maior no grupo HD em relação ao grupo ND nas regiões END e EPI ($p < 0,05$).

Diferenças regionais. Em relação às diferenças entre as regiões do VE, a FDHM da região END foi menor em relação à região EPI nos grupos NS, NT e foi maior no grupo HT ($p < 0,05$).

4.3.5- Largura total das sparks:

Os resultados referentes à largura total das sparks estão apresentados na figura 5, gráfico 5 e tabela 10 em anexo.

Hipertensão. Para observar os efeitos da hipertensão sobre a largura total das sparks foram comparados os grupos HS e HSD com os grupos NS e NSD, respectivamente. Os resultados mostraram que a largura total das sparks foi significativamente menor no grupo HS em relação ao grupo NS nas regiões EPI e VD. Não houve diferença significativa entre os grupos na região END. A largura total das sparks foi significativamente maior no grupo HSD quando comparado ao grupo NSD, em todas as regiões.

Treinamento físico. Para estudar os efeitos do treinamento físico sobre a largura total das sparks, foram comparados os grupos NT e HT com os grupos NS e HS, respectivamente. Os resultados mostraram que o grupo NT apresentou a largura total das sparks maior em relação ao grupo NS, em todas as regiões ($p < 0,05$). Em relação aos grupos HT e HS, a largura total das sparks foi significativamente maior no grupo HT em relação ao HS nas regiões END e VD. Não foi encontrada diferença significativa entre os grupos HT e HS na região EPI. Em relação ao grupo HT e NT, o grupo HT apresentou a largura total das sparks significativamente menor em relação ao grupo NT, em todas as regiões ventriculares.

Destreinamento. Para verificar os efeitos do destreinamento sobre a largura total das sparks, foram comparados os grupos HD e ND com os grupos HSD e NSD, respectivamente. Foi observado que a largura total das sparks foi maior no grupo ND em relação ao grupo NSD na região END e foi menor no VD ($p < 0,05$). Não foi encontrada diferença significativa entre os grupos na região EPI. Em relação aos grupos HD e HSD foi observado que a largura total das sparks foi menor no grupo HD em relação ao grupo HSD, nas regiões EPI e VD e foi maior na região END ($p < 0,05$). Comparando os grupos HD e ND, foi

observado que a largura total das *sparks* foi significativamente maior no grupo HD em relação ao grupo ND nas regiões END e EPI.

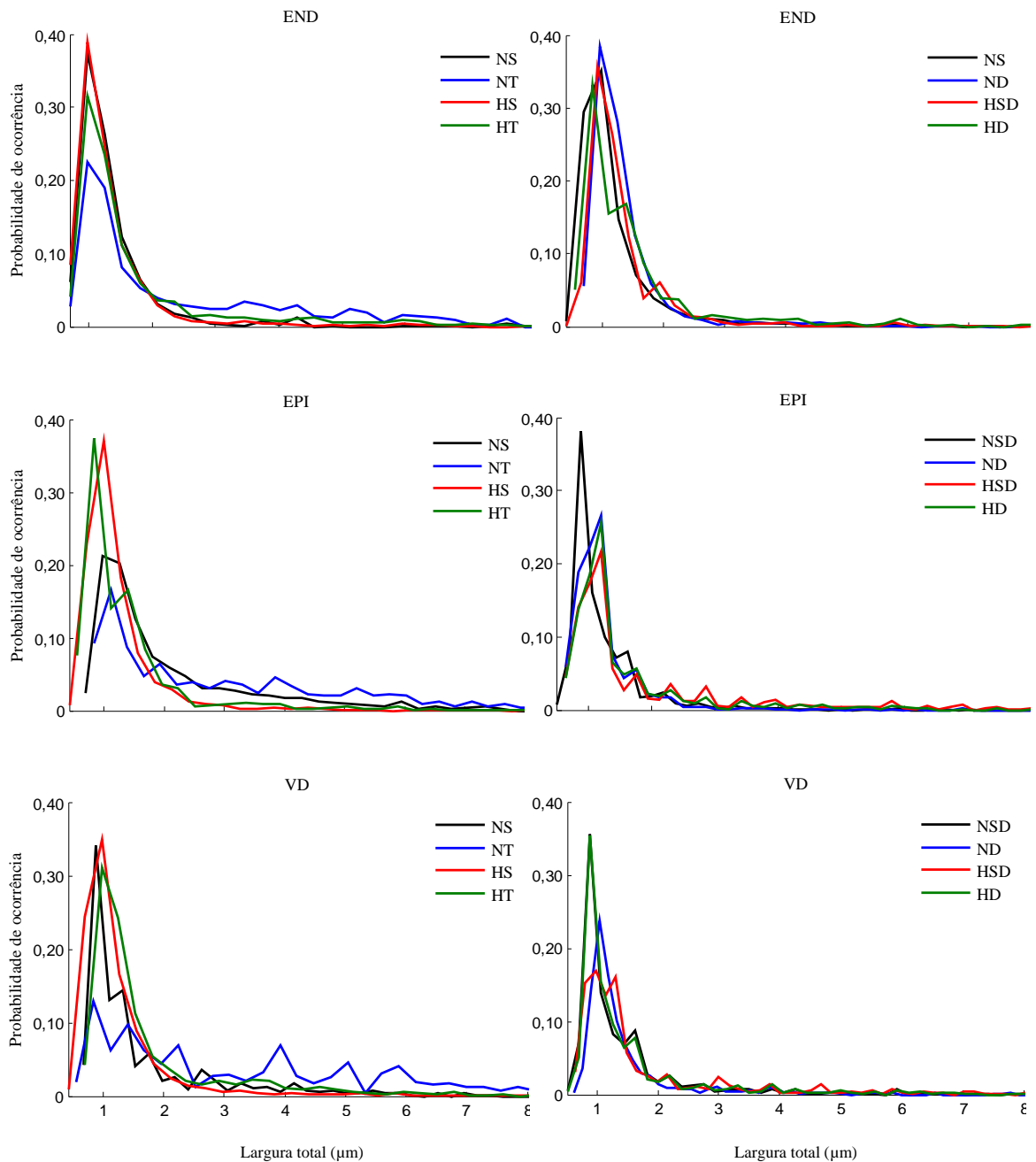
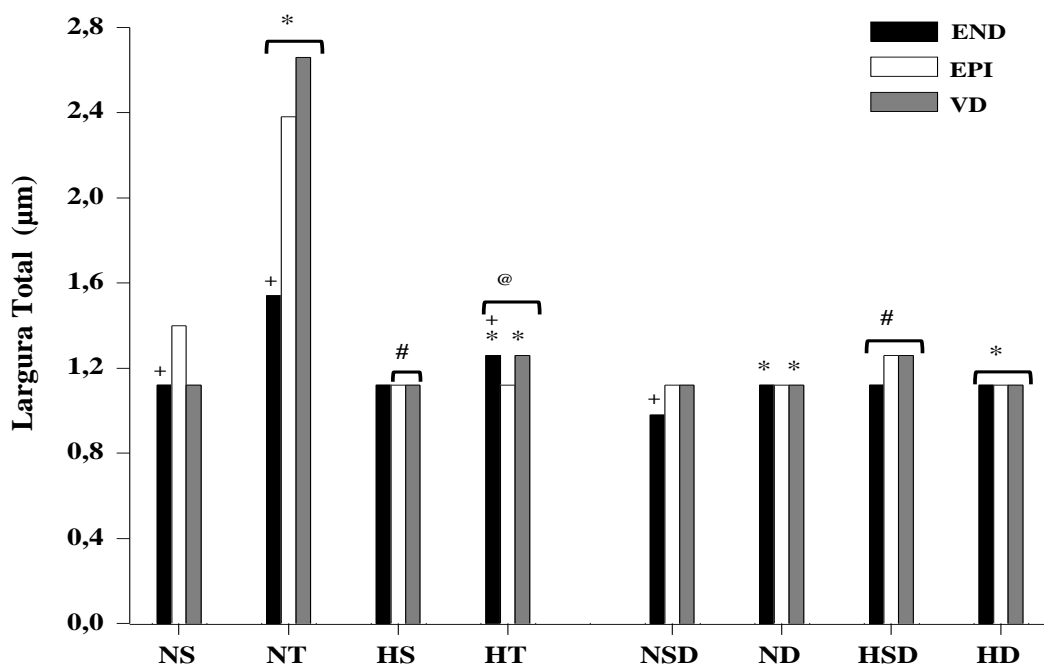


Figura 5. Histogramas da largura total das *sparks* (μm) nos cardiomiócitos dos ratos normotensos sedentários (NS), normotensos treinados (NT), hipertensos sedentários (HS), hipertensos treinados (HT), normotensos sedentários por 12 semanas (NSD), normotensos destreinados (ND), hipertensos sedentários por 12 semanas (HSD) e hipertensos destreinados (HD). END= células da região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= células da região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= células do ventrículo direito.

Gráfico 5. Largura total da *spark*.



Os dados são expressos como mediana. NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. END= região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= ventrículo direito. (*) indica diferença ($p < 0,05$) em relação aos grupos NS e HS / NSD e HSD; (#) indica diferença ($p < 0,05$) em relação aos grupos NS / NSD; (@) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NT; (+) indica diferença ($p < 0,05$) em relação à região EPI;

Diferenças regionais. Em relação às diferenças entre as regiões do VE, a largura total das *sparks* da região END foi menor em relação à região EPI nos grupos NS, NT e NSD e foi maior no grupo HT ($p < 0,05$).

4.3.6- Duração total das *sparks*:

Os resultados referentes à duração total das *sparks* estão apresentados na figura 6, gráfico 6 e tabela 11 em anexo.

Hipertensão. Para observar os efeitos da hipertensão sobre a duração total das *sparks* foram comparados os grupos HS e HSD com os grupos NS e NSD, respectivamente. Os resultados mostraram que a duração total das *sparks* do grupo HS foi significativamente menor em relação ao grupo NS, nas regiões EPI e

VD. Não houve diferença significativa entre os grupos na região END. A duração total das *sparks* foi significativamente maior no grupo HSD quando comparado ao grupo NSD, em todas as regiões.

Treinamento físico. Para estudar os efeitos do treinamento físico sobre a duração total das *sparks* foram comparados os grupos NT e HT com os grupos NS e HS, respectivamente. Os resultados mostraram que a duração total das *sparks* foi significativamente maior no grupo NT em relação ao grupo NS, em todas as regiões. Em relação aos grupos HT e HS, a duração total das *sparks* foi significativamente maior no grupo HT quando comparado ao grupo HS nas regiões END e VD. Não houve diferença significativa entre os grupos na região EPI. Em relação ao grupo HT e NT, o grupo HT apresentou a duração total das *sparks* menor em relação ao grupo NT, em todas as regiões ventriculares ($p < 0,05$).

Destreinamento. Para verificar os efeitos do destreinamento sobre a duração total das *sparks*, foram comparados os grupos ND e HD com os grupos NSD e HSD, respectivamente. Os resultados mostraram que a duração total das *sparks* foi significativamente maior no grupo ND em relação ao NSD na região END. Não houve diferença significativa entre os grupos nas regiões EPI e VD. Em relação aos grupos HD e HSD, foi observado que a duração total das *sparks* foi menor no grupo HD em relação ao grupo HSD, nas regiões EPI e VD e foi maior na região END ($p < 0,05$). Comparando os grupos HD e ND, foi observado que a duração total das *sparks* foi significativamente maior no HD em relação ao grupo ND nas regiões END e EPI.

Diferenças regionais. Em relação às diferenças entre as regiões do VE a duração total das *sparks* da região END foi menor em relação à região EPI nos grupos NS e NT e maior no grupo HT ($p < 0,05$).

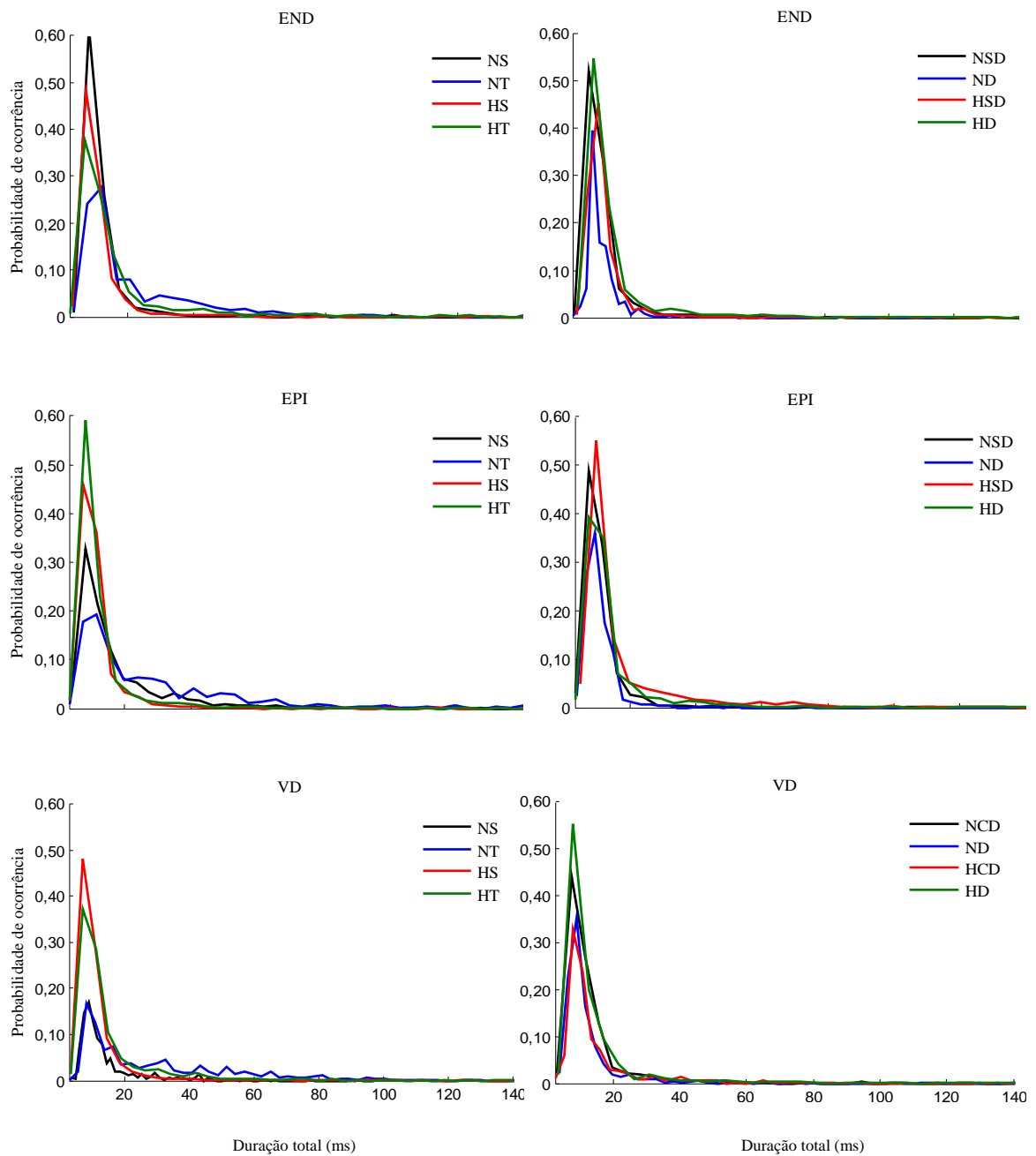
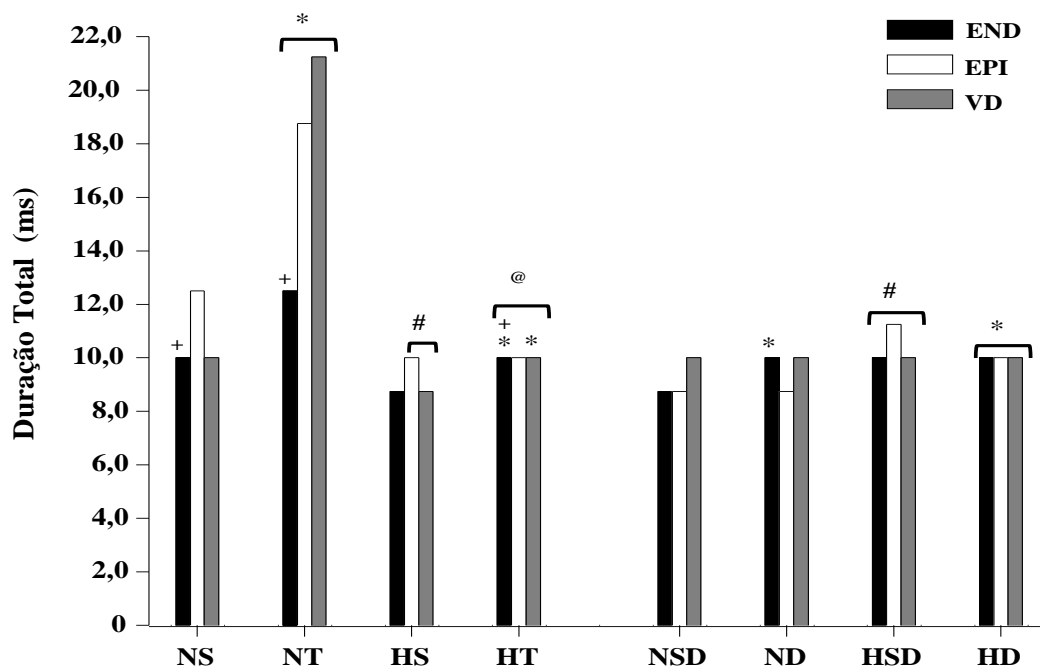


Figura 6. Histogramas da duração total das *sparks* (ms) nos cardiomiócitos dos ratos normotensos sedentários (NS), normotensos treinados (NT), hipertensos sedentários (HS), hipertensos treinados (HT), normotensos sedentários por 12 semanas (NSD), normotensos destreinados (ND), hipertensos sedentários por 12 semanas (HSD) e hipertensos destreinados (HD). END= células da região do subendocardio do ventrículo esquerdo; EPI= células da região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= células do ventrículo direito.

Gráfico 6. Duração total da *spark*.



Os dados são expressos como mediana. NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. END= região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= ventrículo direito. (*) indica diferença ($p < 0,05$) em relação aos grupos NS e HS / NSD e HSD; (#) indica diferença ($p < 0,05$) em relação aos grupos NS / NSD; (@) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NT; (+) indica diferença ($p < 0,05$) em relação à região EPI;

4.3.7- Tempo até o pico da *spark* (T_{pico})

Os resultados referentes ao T_{pico} estão apresentados na figura 7, gráfico 7 e tabela 12 em anexo.

Hipertensão. Para observar os efeitos da hipertensão sobre o T_{pico} foram comparados os grupos HS e HSD com os grupos NS e NSD, respectivamente. Os resultados mostraram que o T_{pico} do grupo HS foi significativamente menor em relação ao grupo NS nas regiões EPI e VD. Não houve diferença significativa entre os grupos na região END. O T_{pico} foi maior no grupo HSD em relação ao grupo NSD, em todas as regiões ($p < 0,05$).

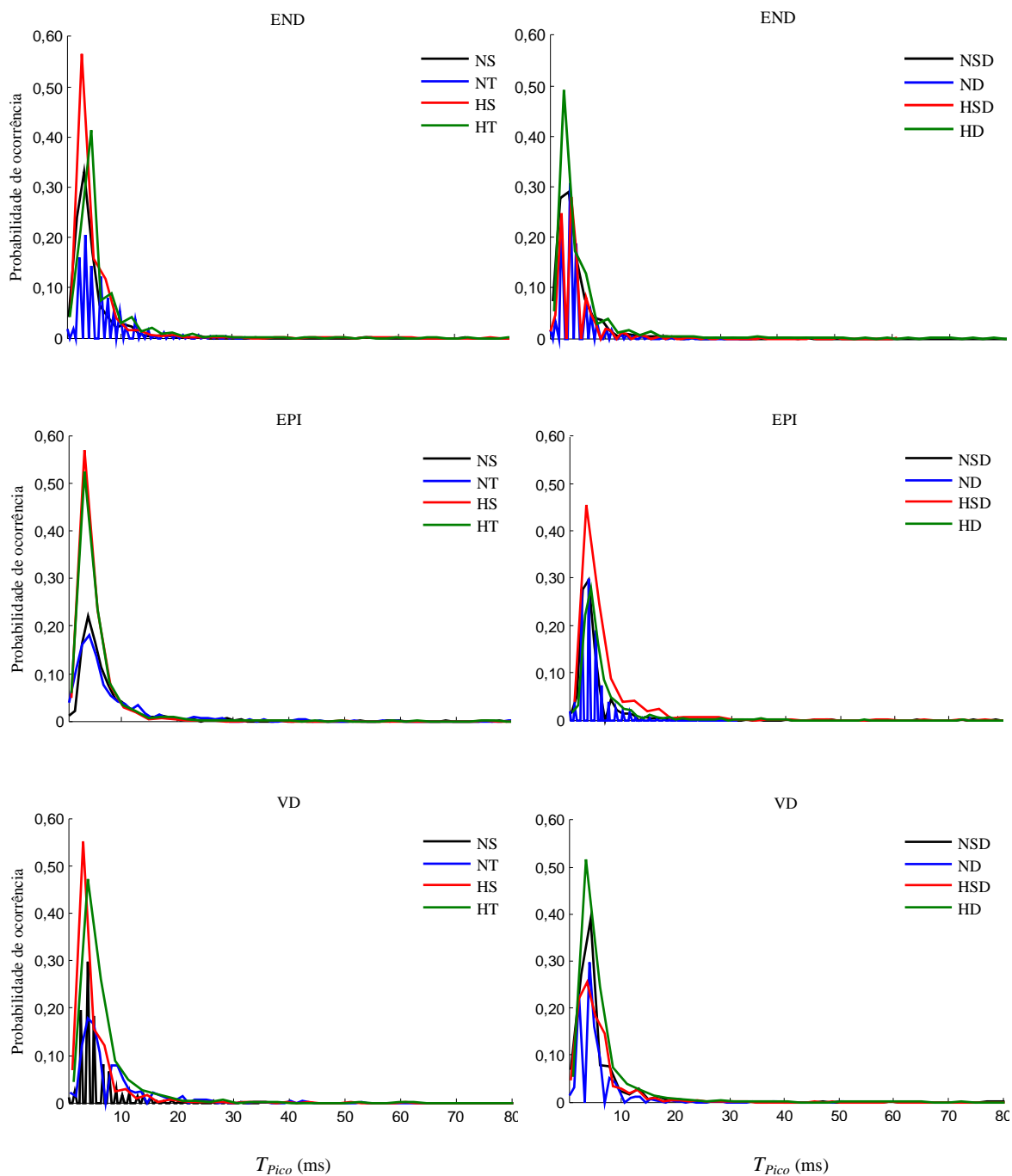
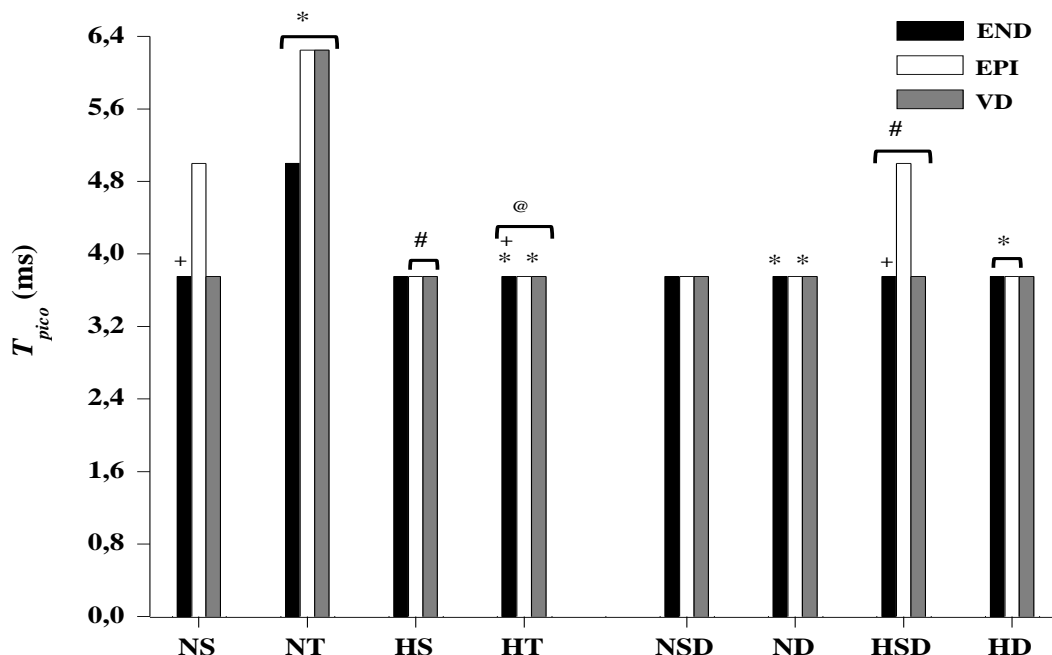


Figura 7. Histogramas do tempo até o pico das *sparks* (T_{pico}) (ms) nos cardiomiócitos dos ratos normotensos sedentários (NS), normotensos treinados (NT), hipertensos sedentários (HS), hipertensos treinados (HT), normotensos sedentários por 12 semanas (NSD), normotensos destreinados (ND), hipertensos sedentários por 12 semanas (HSD) e hipertensos destreinados (HD). END= células da região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= células da região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= células do ventrículo direito.

Gráfico 7. Tempo até o pico da *spark*.



Os dados são expressos como mediana. T_{pico} = tempo até o pico da *spark*; NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. END= região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= ventrículo direito. (*) indica diferença ($p < 0,05$) em relação aos grupos NS e HS / NSD e HSD; (#) indica diferença ($p < 0,05$) em relação aos grupos NS / NSD; (@) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NT; (+) indica diferença ($p < 0,05$) em relação à região EPI;

Treinamento físico. Para estudar os efeitos do treinamento físico sobre o T_{pico} foram comparados os grupos NT e HT com os grupos NS e HS, respectivamente. Os resultados mostraram que o T_{pico} foi significativamente maior no grupo NT em relação ao grupo NS, em todas as regiões. Em relação aos grupos HT e HS, os resultados mostraram que o T_{pico} foi significativamente maior no grupo HT em relação ao grupo HS nas regiões END e VD. Não houve diferença significativa entre estes grupos na região EPI. Em relação ao grupo HT e NT o grupo HT apresentou o T_{pico} menor em relação ao grupo NT em todas as regiões ventriculares ($p < 0,05$).

Destreinamento. Para verificar os efeitos do destreinamento sobre o T_{pico} foram comparados os grupos ND e HD com os grupos NSD e HSD,

respectivamente. Foi observado que o T_{pico} foi significativamente maior no grupo ND em relação ao grupo NSD nas regiões END e VD. Não houve diferença significativa entre os grupos na região EPI. Em relação aos grupos HD e HSD, foi observado que o T_{pico} foi menor no grupo HD em relação ao grupo HSD na região EPI e foi maior na região END ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa entre os grupos no VD. Comparando os grupos HD e ND, foi observado que o T_{pico} foi significativamente maior no grupo HD em relação ao grupo ND nas regiões END e EPI.

Diferenças regionais. Em relação às diferenças entre as regiões do VE, o T_{pico} da região END foi menor em relação à região EPI nos grupos NS e HSD e foi maior no grupo HT ($p < 0,05$).

4.3.8- Inclinação máxima da fase ascendente da *spark* (I_{max})

Os resultados referentes à I_{max} estão apresentados na figura 8, gráfico 8 e tabela 13 em anexo.

Hipertensão. Para observar os efeitos da hipertensão sobre a I_{max} , foram comparados os grupos HS e HSD com os grupos NS e NSD, respectivamente. Os resultados mostraram que a I_{max} do grupo HS foi significativamente menor em relação ao grupo NS, em todas as regiões ventriculares. A I_{max} foi maior no grupo HSD em relação ao grupo NSD, em todas as regiões ventriculares ($p < 0,05$).

Treinamento físico. Para estudar os efeitos do treinamento físico sobre a I_{max} , foram comparados os grupos NT e HT com os grupos NS e HS, respectivamente. Os resultados mostraram que a I_{max} foi significativamente menor no grupo NT em relação ao grupo NS, em todas as regiões ventriculares. Em relação aos grupos HS e HT, a I_{max} foi maior no grupo HT em relação ao grupo HS nas regiões END e VD e foi menor na região EPI ($p < 0,05$). Em relação ao grupo HT e NT, o grupo HT apresentou a I_{max} maior em relação ao grupo NT nas regiões END e VD e menor na região EPI ($p < 0,05$).

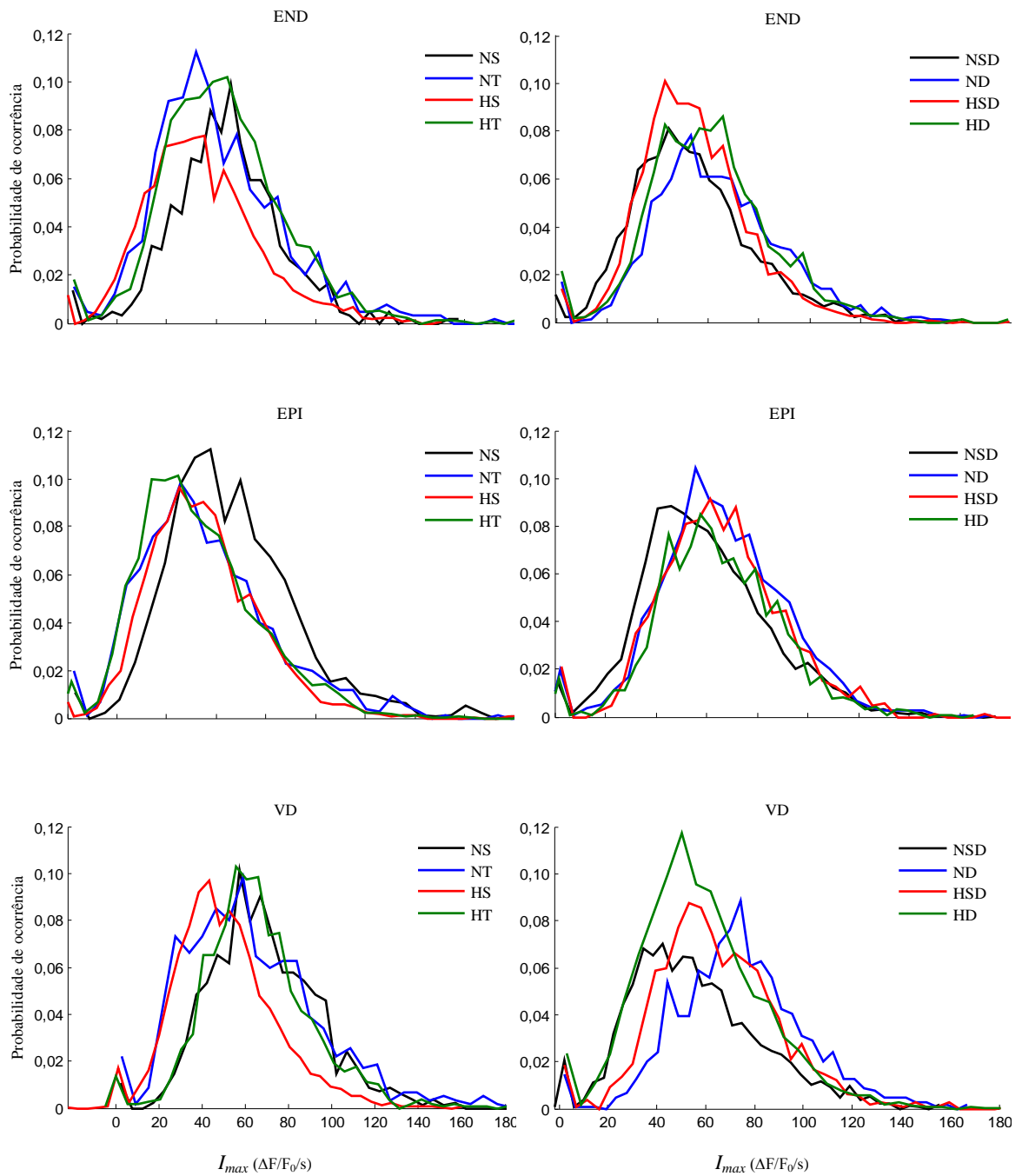
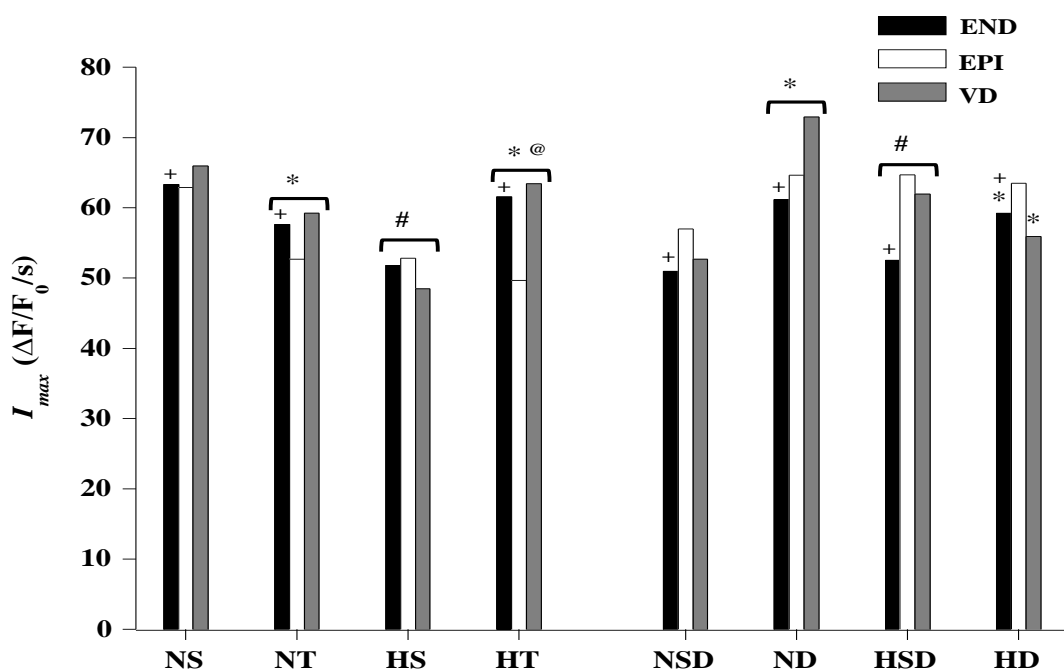


Figura 8. Histogramas da inclinação máxima da fase ascendente da *spark* (I_{max}) ($\Delta F/F_0/s$) nos cardiomiócitos dos ratos normotensos sedentários (NS), normotensos treinados (NT), hipertensos sedentários (HS), hipertensos treinados (HT), normotensos sedentários por 12 semanas (NSD), normotensos destreinados (ND), hipertensos sedentários por 12 semanas (HSD) e hipertensos destreinados (HD). END= células da região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= células da região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= células do ventrículo direito.

Gráfico 8. Inclinação máxima da fase ascendente da *spark*.



Os dados são expressos como mediana. I_{max} = inclinação máxima da fase ascendente da *spark*; NS = grupo normotenso sedentário; NT = grupo normotenso treinado; HS = grupo hipertenso sedentário; HT = grupo hipertenso treinado; NSD = grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND = grupo normotenso destreinado; HSD = grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD = grupo hipertenso destreinado. END = região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI = região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD = ventrículo direito. (*) indica diferença ($p < 0,05$) em relação aos grupos NS e HS / NSD e HSD; (#) indica diferença ($p < 0,05$) em relação aos grupos NS / NSD; (@) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NT; (+) indica diferença ($p < 0,05$) em relação à região EPI;

Diferenças regionais. Em relação às diferenças entre as regiões do VE, a I_{max} da região END foi maior em relação à região EPI nos grupos: NS, NT e HT e foi menor nos grupos NSD, ND, HSD e HD ($p < 0,05$).

4.3.9- Constante de tempo de decaimento das *sparks* (τ)

Os resultados referentes à τ estão apresentados na figura 9, gráfico 9 e tabela 14 em anexo.

Hipertensão. Para observar os efeitos da hipertensão sobre a τ , foram comparados os grupos HS e HSD com os grupos NS e NSD, respectivamente. Os resultados mostraram que a τ do grupo HS foi significativamente menor em

relação ao grupo NS nas regiões EPI e VD. Não houve diferença significativa entre os grupos na região END. A τ foi significativamente maior no grupo HSD em relação ao grupo NSD, em todas as regiões ventriculares.

Treino físico. Para estudar os efeitos do treinamento físico sobre a τ , foram comparados os grupos NT e HT com os grupos NS e HS, respectivamente. Os resultados mostraram que a τ foi significativamente maior no grupo NT em relação ao grupo NS, em todas as regiões ventriculares. Em relação aos grupos HS e HT o grupo HT apresentou uma τ maior em relação ao grupo HS nas regiões END e VD ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa entre estes grupos na região EPI. Em relação aos grupos HT e NT o grupo HT apresentou uma τ significativamente menor em relação ao grupo NT, em todas as regiões ventriculares.

Destreino. Para verificar os efeitos do destreino sobre a τ , foram comparados os grupos ND e HD com os grupos NSD e HSD, respectivamente. Os resultados mostraram que o grupo ND apresentou uma τ significativamente maior em relação ao grupo NSD, em todas as regiões ventriculares. Em relação aos grupos HD e HSD, foi observado que a τ foi menor no grupo HD em relação ao grupo HSD nas regiões EPI e VD e maior na região END ($p < 0,05$). Comparando os grupos HD e ND, foi observado que a τ foi maior no grupo HD em relação ao grupo ND nas regiões END e EPI e menor no VD ($p < 0,05$).

Diferenças regionais. Em relação às diferenças entre as regiões do VE, a τ da região END foi significativamente menor em relação à região EPI nos grupos NS, NT, HSD e foi maior no grupo HT ($p < 0,05$).

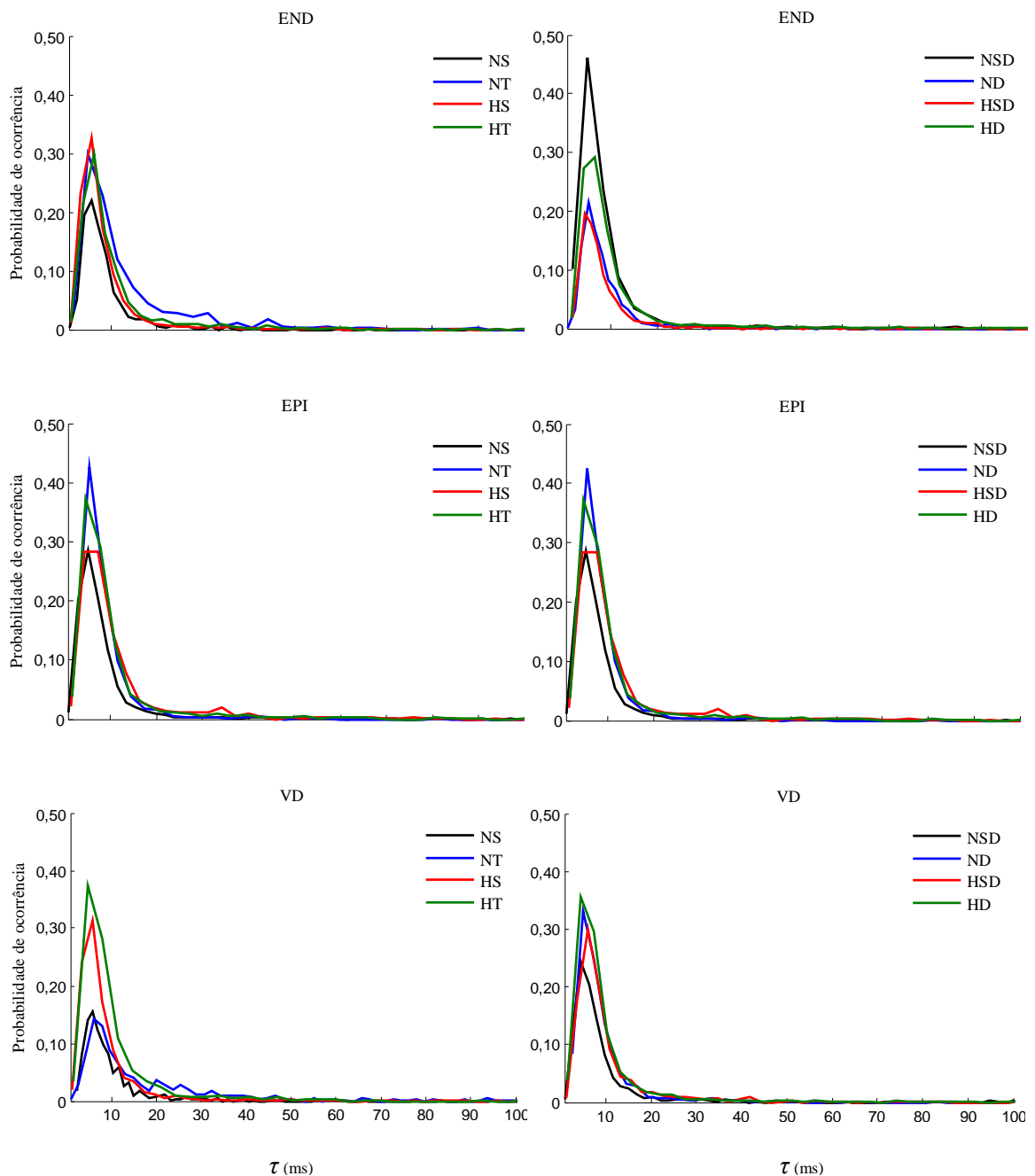
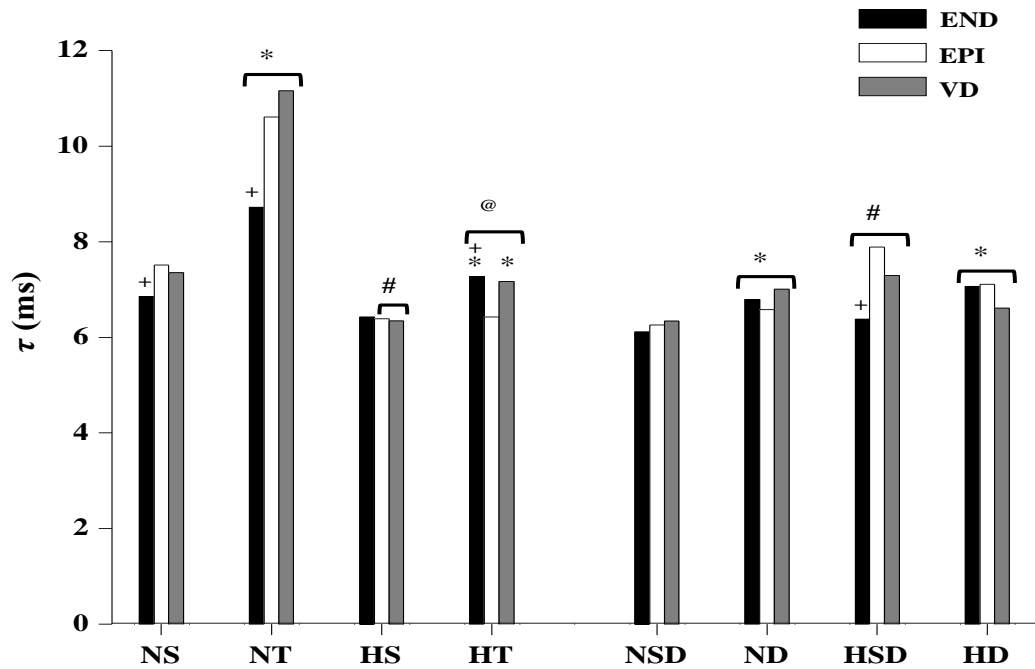


Figura 9. Histogramas da constante de tempo de decaimento das *sparks* (τ) (ms) nos cardiomiócitos dos ratos normotensos sedentários (NS), normotensos treinados (NT), hipertensos sedentários (HS), hipertensos treinados (HT), normotensos sedentários por 12 semanas (NSD), normotensos destreinados (ND), hipertensos sedentários por 12 semanas (HSD) e hipertensos destreinados (HD). END= células da região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= células da região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= células do ventrículo direito.

Gráfico 9. Constante de tempo de decaimento das *sparks*.



Os dados são expressos como mediana. τ = constante de tempo de decaimento da *spark*; NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. END= região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= ventrículo direito. (*) indica diferença ($p < 0,05$) em relação aos grupos NS e HS / NSD e HSD; (#) indica diferença ($p < 0,05$) em relação aos grupos NS / NSD; (@) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NT; (+) indica diferença ($p < 0,05$) em relação à região EPI;

5- DISCUSSÃO

O presente estudo teve como meta investigar os efeitos do treinamento e do destreinamento físico sobre as características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} , em cardiomiócitos de ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Os animais no presente estudos foram divididos em ratos normotensos e hipertensos: sedentário por 8 semanas, sedentários por 12 semanas, treinados por 8 semanas e destreinados por 4 semanas. Observamos que a hipertensão provocou perdas nas características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} e que o treinamento físico atenuou-as. Foi demonstrado também que o destreinamento físico por 4 semanas não reverteu todas as alterações promovidas pelo treinamento físico nas características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} .

Num primeiro momento, analisamos os parâmetros hemodinâmicos e os efeitos do treinamento físico sobre estes parâmetros. A pressão arterial sistólica e a frequência cardíaca de repouso dos animais foram medidas no início e no final do período experimental, 48 h após a última sessão de treinamento. Observamos que os animais SHR apresentaram uma pressão arterial sistólica de 154 mmHg. Os valores de pressão arterial encontrados no presente estudo estão de acordo com o critério utilizado para o diagnóstico de hipertensão em ratos SHR, que correspondem a pressão arterial sistólica igual ou superior a 150 mmHg por um período superior a um mês, sem qualquer tipo de intervenção externa (Doggrell & Brown 1998). Nossos resultados mostraram que o treinamento físico reduziu a pressão arterial dos animais SHR de 154 mmHg para 144 mmHg e que o destreinamento reverteu tais adaptações induzidas pelo treinamento. Nossos resultados vão de encontro a outros trabalhos que demonstraram que o treinamento físico foi eficaz na redução da pressão arterial em animais SHR (Véras-Silva et al. 1997; Amaral et al. 2000; Horta et al. 2005; Sun et al. 2008, Hua et al., 2009).

Quanto à frequência cardíaca, os animais hipertensos apresentaram a frequência cardíaca de repouso maior em relação aos normotensos. Observamos que o treinamento físico reduziu a frequência cardíaca de repouso nos animais hipertensos e normotensos. Estes achados vão de encontro a outros estudos que observaram uma redução na frequência cardíaca de repouso induzida pelo treinamento físico em animais hipertensos (Hua et al., 2009; Horta et al., 2005) e

normotensos (Evangelista et al. 2005). Este efeito pode estar associado à redução na atividade simpática e o aumento do tônus vagal promovido pelo treinamento físico (Pinto et al., 2006; Mostarda et al. 2009). O período de destreinamento de 4 semanas reverteu as adaptações ocorridas na frequência cardíaca de repouso nos animais normotensos mas não reverteu as adaptações ocorridas na frequência cardíaca de repouso nos animais hipertensos. Este resultado está de acordo com o estudo prévio de Evangelista et al. (2005).

Para manter a homeostasia celular em função das demandas metabólicas alteradas com o processo hipertensivo, o treinamento físico promove efeitos importantes nos parâmetros hemodinâmicos que influenciam o sistema cardiovascular. O exercício físico crônico promove uma diminuição na resistência vascular periférica em função da redução da atividade nervosa simpática, levando a uma diminuição na frequência cardíaca de repouso (Grassi et al. 1994; Evangelista et al., 2005). Esse efeito na redução da atividade simpática pode estar relacionado com o aumento induzido pelo treinamento físico na produção do neurotransmissor GABA, que é um neurotransmissor inibidor do sistema nervoso simpático (Kramer et al., 2001). O treinamento físico também aumenta a sensibilidade barorreflexa das artérias (Brum et al., 2000), diminui os níveis plasmáticos de renina e angiotensina II em repouso (Pescatello et al., 2004), reduz o volume plasmático e o volume sistólico (Véras-Silva et al., 1997; Pescatello et al., 2004), produz substâncias vasoativas como o peptídeo atrial natriurético (PNA), que é uma substância vasodilatadora (Schillinger et al., 2005), e aumenta a vasodilatação dependente do endotélio, via produção de óxido nítrico, ajudando a reduzir a resistência vascular periférica (Pescatello et al., 2004). Estes mecanismos podem ter contribuído para as reduções da pressão arterial e da frequência cardíaca de repouso e explicar os efeitos do treinamento físico sobre os parâmetros hemodinâmicos medidos no presente estudo.

Para verificar o efeito do treinamento no desempenho físico dos animais, foi realizado um teste de exaustão e verificado o *TTF*. Os resultados mostraram que os animais normotensos treinados tiveram um *TTF* 50% maior em relação aos animais normotensos sedentários e que os animais hipertensos treinados tiveram um *TTF* 47% maior em relação aos animais hipertensos sedentários. O destreinamento reverteu os efeitos do treinamento no *TTF* em todos os grupos. O *TTF* aumentado nos ratos treinados no presente estudo, indica um aumento no

desempenho físico destes animais em função do aumento da capacidade de corrida, sugerindo uma melhora na capacidade aeróbica induzida pelo treinamento físico. Neste sentido, estudos prévios mostraram que o treinamento físico aumentou a capacidade de corrida nos ratos Wistar e SHR (Melo et al., 2003; Amaral et al., 2008; Jordão et al., 2011). Outros estudos, também mostraram aumentos no desempenho físico e na capacidade aeróbica, induzidos pelo treinamento físico, em ratos normotensos (Kemi et al., 2004; Evangelista et al., 2005). Nestes estudos o destreino físico reverteu estes ganhos.

Após observarmos os parâmetros hemodinâmicos e de desempenho físico, analisamos os efeitos da hipertensão, do treinamento e do destreino nos índices de hipertrofia cardíaca. Observamos no presente estudo que a hipertensão promoveu um aumento no peso relativo dos ventrículos, principalmente em função do aumento significativo no peso relativo do ventrículo direito nos ratos hipertensos. A hipertensão arterial sistêmica, nos estágios iniciais, promove um aumento no débito cardíaco com uma resistência periférica normal. Com a progressão da doença, o débito cardíaco retorna à níveis normais e a hipertrofia dos vasos sanguíneos produz um aumento na resistência periférica total, provocando um aumento do estresse sobre a parede ventricular esquerda, levando a uma hipertrofia concêntrica. Esta é caracterizada pelo aumento da espessura da parede ventricular e pela conseqüente redução da câmara cardíaca e do volume diastólico final (Doggrell & Brown 1998; Pawlusch et al., 1993; Bing et al., 2002; McMullen & Jennings, 2007).

O treinamento físico aeróbico produz um aumento do comprimento dos cardiomiócitos, gerando uma hipertrofia cardíaca de natureza excêntrica, produzindo um aumento da dimensão interna da câmara ventricular e do volume diastólico final, atenuando desta forma o estresse sobre a parede ventricular imposta pela hipertensão o que contribuiria para a manutenção da função cardíaca normal (Moore et al., 1993; Atchley et al., 2007). No presente estudo, o treinamento físico aumentou o peso relativo dos ventrículos nos ratos do grupo normotenso, contudo não foi observada diferença nos ratos do grupo hipertenso. Estudos prévios mostraram que ratas e ratos SHR treinados em esteira não apresentaram diferenças nos pesos do coração e ventrículos comparados aos SHR sedentários (MacDonnell et al., 2005; Reger et al., 2006; Carneiro-Júnior et al., 2010). Os nossos resultados mostraram que o treinamento físico reduziu o peso

relativo do ventrículo direito nos ratos hipertensos, atenuando os efeitos da hipertensão sobre o ventrículo direito. O destreinamento por 4 semanas reverteu as adaptações promovidas pelo treinamento físico. Este resultado está de acordo com um estudo prévio, onde o treinamento físico promoveu uma redução da hipertrofia cardíaca em ratos SHR (Bertagnolli et al., 2008).

Após observarmos os efeitos da hipertensão e do treinamento físico sobre os índices de hipertrofia cardíaca, analisamos as características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} . Será que a hipertensão altera as características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} ? Nossos resultados mostraram que a hipertensão aumentou a frequência e reduziu a amplitude das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} nos cardiomiócitos dos ratos do grupo HS. Esses achados vão de encontro a estudos prévios que encontraram um aumento na frequência e uma redução na amplitude das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} em cardiomiócitos de ratos diabéticos (Shao et al. 2009), de ratos SHR (Kapur et al. 2010) e de ratos infartados com insuficiência cardíaca (Kemi et al. 2011). Nossos resultados também mostraram que a hipertensão aumentou a frequência das *sparks* espontâneas apenas na região END do VE nos cardiomiócitos dos ratos do grupo HSD. Contrário a isto, foi observada uma redução da frequência das *sparks* espontâneas nas regiões EPI e VD neste grupo. A hipertensão aumentou a amplitude, a largura, a duração, a I_{max} , o T_{pico} e a τ das *sparks* espontâneas nos cardiomiócitos dos ratos do grupo HSD.

Nos estágios iniciais da hipertensão pode ocorrer um aumento na atividade dos RyR2s (Chen-Izu et al., 2007). Os RyR2s estão associados às proteínas *FKBP12.6*, *PKA*, *mAKAP*, *PP1* e *PP2A*, formando um complexo macromolecular que regulam a atividade dos RyR2s (Marks, 2001). O acoplamento entre os RyR2s é regulado pela proteína *FKBP12.6*, que se liga a quatro monômeros de RyR2 e tem a função de estabilizar o canal, sendo importante na manutenção da atividade coordenada de liberação de Ca^{2+} durante a sístole e a diástole (Marx et al., 2001). O aumento na atividade dos RyR2s promovido pelo processo hipertensivo crônico pode promover disfunções nos RyR2s e conseqüentemente nas proteínas associadas a este canal (Bers, 2002a b; Kemi et al., 2008). A dissociação da *FKBP12.6* dos RyR2s é capaz de alterar significativamente as propriedades biofísicas dos canais, aumentando a sensibilidade dos RyR2s ao Ca^{2+} e, em função disso, aumentar a liberação de Ca^{2+} devido à desestabilização dos RyR2s (Marks, 2001). A deficiência na *FKBP12.6*

promove o vazamento de Ca^{2+} do RS levando a arritmias (Lehnart et al., 2006). Em contrapartida, o aumento na expressão da FKBP12.6 reduz a frequência, a amplitude, a largura e a duração das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} (Gomez et al., 2004). Outra proteína envolvida na regulação da liberação de Ca^{2+} pelos RyR2s é a calceustrina CASQ2. A CASQ2 se liga ao RyR2s formando um complexo de liberação de Ca^{2+} do RS. A CASQ2 modula a função dos RyR2s da seguinte maneira: quando a $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{RS}}$ é baixa, a CASQ2 se liga às proteínas triadina e/ou junctina na membrana do RS e inibe a atividade dos RyR2s. Com a restauração da $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{RS}}$, aumentos na $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{RS}}$ inibe a ligação da CASQ2 com as proteínas da membrana do RS, aumentando a atividade dos RyR2s (Gyorke e Terentyev, 2008). A deficiência na CASQ2 pode aumentar a sensibilidade dos RyR2s ao Ca^{2+} e, conseqüentemente, aumentar a frequência de liberação de Ca^{2+} do RS em baixas concentrações de Ca^{2+} citosólico (Stevens et al. 2009). Modificações nestes mecanismos induzidas pela hipertensão poderiam explicar as alterações nas características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} , como a maior frequência e menor amplitude das *sparks* espontâneas encontradas no presente estudo. Contudo, no presente estudo, se a FKBP12.6 ou a CASQ2 estão modificadas nos cardiomiócitos dos ratos SHR, permanece a ser respondido.

Ainda em relação à hipertensão foi mostrado em experimentos com cardiomiócitos isolados de ratos SHR que a hipertensão reduz a atividade e expressão da SERCA2a e aumenta a expressão do transportador NCX (Andrawis et al., 1988; Collins et al., 2005; Fowler et al., 2007). Estas alterações deletérias reduzem a captação do Ca^{2+} pelo RS e aumentam a saída do Ca^{2+} dos cardiomiócitos pelos NCX, reduzindo o conteúdo de Ca^{2+} do RS (Fowler et al., 2007; Piacentino et al., 2003). Esses mecanismos podem estar relacionados às alterações observadas nas características morfológicas das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} induzidas pela hipertensão observadas no presente estudo, como as reduções na amplitude, largura, duração, inclinação máxima da fase ascendente, constante de tempo de decaimento e tempo para o pico das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} encontrados no grupo HS.

Sobre os efeitos divergentes da hipertensão encontrados nas características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} entre os grupos HS e HSD, é pouco provável que fatores temporais referentes à idade tenham influenciado, uma vez que a diferença entre os grupos é de apenas um mês. Contudo, não está claro no

momento as causas destas divergências encontradas entre estes grupos no presente estudo.

Após a confirmação de que a hipertensão altera as características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} uma pergunta se faz necessária: o treinamento físico pode reverter as alterações promovidas pela hipertensão? Os resultados do presente estudo mostraram que o treinamento físico reduziu a frequência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} nas regiões END e EPI do VE nos ratos normotensos. O treinamento físico aumentou a amplitude das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} nas regiões END e VD. Contrário a isto, o treinamento físico reduziu a amplitude na região EPI do VE. Nos animais hipertensos nossos resultados mostraram que o treinamento físico atenuou o aumento na frequência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} nas regiões END e VD. O treinamento físico aumentou a amplitude das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} nas regiões END e VD. Contrário a isto, o treinamento físico reduziu a amplitude das *sparks* espontâneas na região EPI do VE nos cardiomiócitos dos ratos hipertensos. Estudos prévios mostraram que o treinamento físico atenuou o aumento da frequência, bem como aumentou a amplitude das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} em ratos diabéticos e com insuficiência cardíaca (Shao et al. 2009; Kemi et al. 2011). Além da frequência e da amplitude das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} , nossos resultados mostraram também que o treinamento físico aumentou a FWHM, a largura total das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} , a FDHM, a duração total das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} , o T_{pico} e a τ nas regiões END, EPI e VD nos ratos normotensos, e nas regiões END e VD nos ratos hipertensos. Foi observado também que o treinamento físico reduziu a I_{max} nas regiões END, EPI e VD nos ratos normotensos. Nos ratos hipertensos o treinamento físico aumentou a I_{max} nas regiões END e VD e a reduziu na região EPI.

Nossos resultados sugerem que o treinamento físico altera as características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} nos ratos normotensos e atenua os efeitos da hipertensão sobre as características destas nos ratos SHR. Esses resultados vão de encontro a outro estudo que mostrou que o treinamento físico melhorou o controle do Ca^{2+} durante a diástole, reduzindo as ondas de Ca^{2+} espontâneas nos cardiomiócitos de ratos normais e com insuficiência cardíaca (Kemi et al., 2011). Em outro trabalho, Shao et al. (2009) não observaram alterações nas características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} induzidas pelo

treinamento físico em ratos normotensos. Em contrapartida, os autores observaram que o treinamento físico alterou as características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} em animais diabéticos, revertendo os efeitos deletérios causados pela diabetes sobre os RyR2s. Estes efeitos sobre a sinalização de Ca^{2+} podem ser atribuídos a fatores como a modulação dos RyR2s e aumentos na expressão e atividade da proteína SERCA2a e do número de NCX na membrana plasmática das células, induzidos pelo treinamento físico (Wisloff et al. 2001; Wisloff et al. 2002; MacDonnell et al., 2005).

Sobre a modulação dos RyR2s, a sensibilidade destes canais ao Ca^{2+} pode ser regulada pela fosforilação dos RyR2s no nível da Ser²⁸⁰⁸ e Ser²⁸¹⁴ pelas proteínas PKA e CaMKII, respectivamente. Shao et al. (2009) analisaram a fosforilação dos RyRs no nível da Ser²⁸⁰⁸ e Ser²⁸¹⁴, observando que o diabetes aumentou o nível de fosforilação dos RyRs e o treinamento físico atenuou estes aumentos, tanto para Ser²⁸⁰⁸ quanto para Ser²⁸¹⁴. O aumento na fosforilação dos RyR2s pode aumentar a sensibilidade destes canais ao Ca^{2+} , levando ao aumento da frequência das *sparks* espontâneas. No presente estudo foi observado um aumento na frequência das *sparks* espontâneas nos animais SHR, sendo que o treinamento físico atenuou estes aumentos.

O treinamento físico pode aumentar a expressão e a atividade da SERCA2a (Wisloff et al. 2001; 2002). Isto pode melhorar a recaptação de Ca^{2+} para o RS, aumentando a concentração deste íon no RS, o que pode levar ao aumento da amplitude das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} (Cheng 2008; Shao et al. 2009). Este mecanismo pode estar envolvido nos aumentos induzidos pelo treinamento físico na amplitude, na largura, na duração, no T_{pico} e na τ das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} no presente estudo.

O presente estudo mostrou que o treinamento físico reverteu as alterações promovidas pela hipertensão nas características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} . Será que 4 semanas de destreinamento é capaz de reverter as alterações promovidas pelo treinamento físico nas características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} ?

Os resultados do presente estudo mostraram que o destreinamento físico por 4 semanas reverteu as alterações promovidas pelo treinamento na frequência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} nos ratos normotensos. Contrário a isto, o destreinamento não reverteu as alterações promovidas pelo treinamento físico na

frequência das *sparks* espontâneas nos ratos hipertensos. Foi observado ainda que o destreino físico por 4 semanas não reverteu as alterações promovidas pelo treinamento na amplitude, na FWHM, na largura total e na τ das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} . Além disso, o destreino não reverteu as alterações promovidas pelo treinamento na FDHM nas regiões END e VD nos ratos normotensos e nas regiões EPI e END nos hipertensos. Para a duração total das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} os resultados mostraram que o destreino por 4 semanas reverteu os efeitos do treinamento nas regiões EPI e VD. Para o T_{pico} , os resultados mostraram que o destreino reverteu as alterações promovidas pelo treinamento físico apenas na região EPI nos ratos normotensos e no VD nos hipertensos. Para a I_{max} , os resultados mostraram que o destreino reverteu os efeitos do treinamento físico apenas na região EPI dos ratos hipertensos. Carneiro-Júnior et al., (2010) estudaram os efeitos do treinamento e do destreino em cardiomiócitos de ratos SHR e observaram que o destreino por 4 semanas reverteu as adaptações promovidas pelo treinamento físico na velocidade máxima de relaxamento dos cardiomiócitos de ratos SHR. Kemi et al. (2004) em seu estudo com ratas normotensas observaram que o treinamento físico por 10 semanas aumentou a contratilidade, o transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ e diminuiu o tempo de contração e o tempo de relaxamento em cardiomiócitos. O aumento da contratilidade celular em resposta ao treinamento foi associado a uma maior sensibilidade dos miofilamentos ao Ca^{2+} , sendo que as taxas de contração e relaxamento foram aumentadas e associadas à aumentos paralelos no transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Todas essas adaptações permaneceram até duas semanas, mas desapareceram após quatro semanas de destreino.

Nós mostramos até aqui os efeitos da hipertensão, do treinamento físico e do destreino sobre as características morfológicas das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} nos cardiomiócitos de ratos Wistar e SHR. Todavia, será que estes efeitos acontecem de forma distinta entre as regiões do ventrículo esquerdo destes animais?

Estudos anteriores mostraram que há diferenças nas propriedades morfológicas, elétricas e mecânicas entre as regiões do VE em ratos e camundongos (Diffe & Nagle 2003a; Natali et al. 2002; Dilly et al. 2006). Em relação a estas diferenças, observa-se que a região END possui um maior

transiente de $[Ca^{2+}]$ (Figueredo et al 1993; Fowler et al 2005, Dilly et al., 2006), uma maior frequência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} (Dilly et al., 2006), uma maior expressão dos canais de Ca^{2+} do tipo L (Wang & Cohen, 2003) e uma maior expressão dos RyR2s (Dilly et al., 2006). Estes mecanismos aumentados na região END podem explicar, pelo menos em parte, as inerências encontradas nas características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} entre as regiões END e EPI no presente estudo, como uma maior frequência na região END, (grupos HS, HSD e HD), uma maior amplitude na região END (grupos NT e HT), maiores largura e duração encontradas na região END (grupo HT) e uma maior I_{max} também na região END (grupos NS, NT e HT).

Em contrapartida, os resultados do presente estudo mostraram valores menores na região END, em relação à região EPI, para a amplitude (grupos NS, NSD, ND, HSD e HD), a largura das *sparks* (grupos NS, NT e NSD), a FDHM (grupos NS e NT), a duração total das *sparks* (grupos NS, NT e HT), o T_{pico} (grupos NS e HSD), a τ (grupos NS, NT e HSD) e a I_{max} (grupos NSD, ND, HSD e HD). Estudos anteriores mostraram uma menor expressão da SERCA2a na região END (Laurita et al., 2003) e uma maior expressão do NCX na região EPI em cardiomiócitos de cães (Xiong et al., 2005). Uma maior frequência das *sparks* observada nos cardiomiócitos da região END, associada a uma menor expressão da SERCA2a nesta região, podem fazer com que o conteúdo de Ca^{2+} no RS seja menor na região END em comparação à região EPI. Isto pode explicar, pelo menos em parte, as menores amplitude, largura e duração das *sparks* encontradas nos cardiomiócitos da região END, em comparação à região EPI, no presente estudo. Por fim, cabe ressaltar que as diferenças regionais têm sido observadas em várias espécies e são divergentes em alguns casos. Por exemplo, o $[Ca^{2+}]_{RS}$ e a I_{CaL} mostraram-se maiores na região EPI em cardiomiócitos de cães (Cordeiro et al., 2004). Em contrapartida, Wang & Cohen, (2003) observaram que a corrente I_{CaL} é maior na região END também em cardiomiócitos de cães. Além disso, Laurita et al. (2003) observaram que a expressão do NCX foi maior na região END em cardiomiócitos de cães, sendo o mesmo observado em cardiomiócitos de camundongos (Dilly et al., 2006). Contrário a isto, Fowler et al. (2005) não encontraram diferenças regionais na expressão do NCX nos cardiomiócitos do VE de ratos. Dado este quadro de divergências e a diversidade de mecanismos

envolvidos, mais estudos tornam-se necessários para a melhor compreensão das diferenças entre as regiões do VE.

6- CONCLUSÕES

- A hipertensão arterial aumentou a frequência e reduziu a amplitude, a FWHM, a FDHM, a largura e duração total, a τ e o T_{pico} , nas regiões EPI e VD e reduziu a I_{max} das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} nos cardiomiócitos dos ratos do grupo HS. A hipertensão arterial aumentou a frequência das *sparks* espontâneas na região END e reduziu nas regiões EPI e VD. Aumentou a amplitude, a FWHM, a FDHM, a largura e duração total, a τ , o T_{pico} e a I_{max} das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} nos cardiomiócitos dos ratos do grupo HSD.

- O treinamento físico alterou as características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} nos ratos Wistar e atenuou os efeitos deletérios da hipertensão sobre as características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} nos ratos SHR.

- O destreinamento por 4 semanas não reverteu todos os efeitos promovidos pelo treinamento nas características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} nos ratos Wistar e SHR.

- As características das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} acontecem de forma distinta entre as regiões END e EPI do ventrículo esquerdo dos ratos Wistar e SHR.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amaral, S. L., T. M. Zorn, e L. C. Michelini. Exercise training normalizes wall-to-lumen ratio of the gracilis muscle arterioles and reduces pressure in spontaneously hypertensive rats. J Hypertens, v.18, n.11, p.1563-72. 2000.

Andrawis, N. S., T. H. Kuo, F. Giacomelli e J. Wiener. "Altered calcium regulation in the cardiac plasma membrane in experimental renal hypertension." J Mol Cell Cardiol 20(7): 625-34. 1988.

Atchley, A. E., Jr. e P. S. Douglas. Left ventricular hypertrophy in athletes: morphologic features and clinical correlates. Cardiol Clin, v.25, n.3, p.371-82. 2007.

Barros, J. G., F. R. Redondo, F. S. Zamo, K. C. Mattos, K. D. Angelis, M. C. Irigoyen e E. M. Oliveira. Treinamento físico de natação promove remodelamento cardíaco e melhora a perfusão sanguínea no músculo cardíaco de SHR via mecanismo dependente de adenosina. Rev Bras Med Esporte – Vol. 17, No 3 – Mai/Jun, 2011.

Balijepalli, R. C., A. J. Lokuta, N. A. Maertz, J. M. Buck, R. A. Haworth, H. H. Valdivia e T. J. Kamp. Depletion of T-tubules and specific subcellular changes in sarcolemmal proteins in tachycardia-induced heart failure. Cardiovasc Res, v.59, n.1, Jul 1, p.67-77. 2003.

Bassani, J. W., R. A. Bassani e D. M. Bers. Relaxation in rabbit and rat cardiac cells: species-dependent differences in cellular mechanisms. J Physiol, v.476, n.2, Apr 15, p.279-93. 1994.

Berridge, M. J. Calcium microdomains: organization and function. Cell Calcium, v.40, n.5-6, Nov-Dec, p.405-12. 2006.

Bers, D. M. Cardiac excitation-contraction coupling. Nature, v.415, n.6868, Jan 10, p.198-205. 2002a.

Bers D. M. *Excitation-contraction coupling and cardiac contractile force*. AH Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2002b.

Bers, D. M. Calcium cycling and signaling in cardiac myocytes. Annu Rev Physiol, v.70, p.23-49. 2008.

Berlin, J. R., M. B. Cannell e W. J. Lederer. Cellular origins of the transient inward current in cardiac myocytes. Role of fluctuations and waves of elevated intracellular calcium. Circ Res 65(1): 115-26. 1989.

Bertagnolli, M., P. C. Schenkel, C. Campos, C. T. Mostarda, D. E. Casarini, A. Bello-Klein, M. C. Irigoyen e K. Rigatto. Exercise training reduces sympathetic modulation on cardiovascular system and cardiac oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. Am J Hypertens, v.21, n.11, p.1188-93. 2008.

Bing, O. H., C. H. Conrad, M. O. Boluyt, K. G. Robinson e W. W. Brooks. Studies of prevention, treatment and mechanisms of heart failure in the aging spontaneously hypertensive rat. Heart Fail Rev, v.7, n.1, Jan, p.71-88. 2002.

Bito, V., M. C. De Waard, L. Biesmans, I. Lenaerts, S. Ozdemir, E. van Deel, Y. Abdel-Mottaleb, R. Driesen, P. Holemans, D. J. Duncker e K. R. Sipido. Early exercise training after myocardial infarction prevents contractile but not electrical remodelling or hypertrophy. Cardiovasc Res, v.86, n.1, Apr 1, p.72-81. 2010.

Brum, P. C., G. J. Da Silva, E. D. Moreira, F. Ida, C. E. Negrão, E. M. Krieger. Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats. Hypertension, v.36, n.6, Dec, p.1018-22. 2000.

Cannell, M. B., H. Cheng e W. J. Lederer. Spatial non-uniformities in $[Ca^{2+}]_i$ during excitation-contraction coupling in cardiac myocytes. Biophys J, v.67, n.5, Nov, p.1942-56. 1994.

Cannell, M. B. e C. H. Kong. Local control in cardiac E-C coupling. J Mol Cell Cardiol, May 14. 2011.

Carneiro-Junior, M. A., M. C. Peluzio, C. H. Silva, P. R. Amorim, K. A. Silva, M. O. Souza, C. A. Castro, D. Roman-Campos, T. N. Primola-Gomes, A. J. Natali. Exercise training and detraining modify the morphological and mechanical properties of single cardiac myocytes obtained from spontaneously hypertensive rats. Braz J Med Biol Res, v.43, n.11, Nov, p.1042-6.

Cordeiro, J. M., L. Greene, C. Heilmann, D. Antzelevitch e C. Antzelevitch. "Transmural heterogeneity of calcium activity and mechanical function in the canine left ventricle." Am J Physiol Heart Circ Physiol 286(4): H1471-9. 2004.

Collins, H. L., A. M. Loka e S. E. Dicarolo. "Daily exercise-induced cardioprotection is associated with changes in calcium regulatory proteins in hypertensive rats." Am J Physiol Heart Circ Physiol 288(2): H532-40. 2005.

Chen-Izu, Y., L. Chen, T. Banyasz, S. L. McCulle, B. Norton, S. M. Scharf, A. Agarwal, A. Patwardhan, L. T. Izu e C. W. Balke. Hypertension-induced remodeling of cardiac excitation-contraction coupling in ventricular myocytes occurs prior to hypertrophy development. Am J Physiol Heart Circ Physiol, v.293, n.6, Dec, p.H3301-10. 2007.

Cheng, H., M. R. Lederer, W. J. Lederer e M. B. Cannell. Calcium sparks and $[Ca^{2+}]_i$ waves in cardiac myocytes. Am J Physiol, v.270, n.1 Pt 1, Jan, p.C148-59. 1996.

Cheng, H. & W. J. Lederer. Calcium sparks. Physiol Rev, v.88, n.4, Oct, p.1491-545. 2008.

Cheng, H., W. J. Lederer e M. B. Cannell. Calcium sparks: elementary events underlying excitation-contraction coupling in heart muscle. Science, v.262, n.5134, Oct 29, p.740-4. 1993.

- Cheng, H., L. S. Song, N. Shirokova, A. Gonzalez, E. G. Lakatta, E. Rios e M. D. Stern. Amplitude distribution of calcium sparks in confocal images: theory and studies with an automatic detection method. Biophys J, v.76, n.2, Feb, p.606-17. 1999.
- Dash, R., K. F. Frank, A. N. Carr, C. S. Moravec e E. G. Kranias. Gender influences on sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-handling in failing human myocardium. J Mol Cell Cardiol, v.33, n.7, Jul, p.1345-53. 2001.
- Delgado, J., A. Saborido, M. Moran e A. Megias. "Chronic and acute exercise do not alter Ca²⁺ regulatory systems and ectonucleotidase activities in rat heart." J Appl Physiol 87(1): 152-60. 1999.
- Diffie, G. M. Adaptation of cardiac myocyte contractile properties to exercise training. Exerc Sport Sci Rev, v.32, n.3, Jul, p.112-9. 2004.
- Diffie, G. M. and D. F. Nagle. "Regional differences in effects of exercise training on contractile and biochemical properties of rat cardiac myocytes." J Appl Physiol 95(1): 35-42, 2003a.
- Diffie, G. M. and D. F. Nagle. "Exercise training alters length dependence of contractile properties in rat myocardium." J Appl Physiol 94(3): 1137-44. 2003b.
- Diffie, G. M., E. A. Seversen e M. M. Titus. Exercise training increases the Ca(2+) sensitivity of tension in rat cardiac myocytes. J Appl Physiol, v.91, n.1, Jul, p.309-15. 2001.
- Dilly, K. W., C. F. Rossow, V. S. Votaw, J. S. Meabon, J. L. Cabarus e L. F. Santana. Mechanisms underlying variations in excitation-contraction coupling across the mouse left ventricular free wall. J Physiol, v.572, n.Pt 1, Apr 1, p.227-41. 2006.
- Doggrell, S. A. e L. Brown. Rat models of hypertension, cardiac hypertrophy and failure. Cardiovasc Res, v.39, n.1, Jul, p.89-105. 1998.
- Evangelista, F. S., S. E. D. Martuchi, C. E. Negrão e P. C. Brum. Detraining effects on the autonomic regulation of heart rate and VO₂max in rats. Med Sci Sports Exerc, v.31, n.5, p.225. 1999.
- Evangelista, F. S., S. E. D. Martuchi, C. E. Negrão e P. C. Brum. Loss of resting bradycardia with detraining is associated with intrinsic heart rate changes. Braz J Med Biol Res, v.38, n.7, p.1141-6. 2005.
- Fabiato, A. e F. Fabiato. Dependence of the contractile activation of skinned cardiac cells on the sarcomere length. Nature, v.256, n.5512, Jul 3, p.54-6. 1975.
- Fabiato, A. e F. Fabiato. Calcium-induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of skinned cells from adult human, dog, cat, rabbit, rat,

and frog hearts and from fetal and new-born rat ventricles. Ann N Y Acad Sci, v.307, Apr 28, p.491-522. 1978.

Fabiato, A. Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum. Am J Physiol, v.245, n.1, Jul, p.C1-14. 1983.

Figueredo, V. M., R. Brandes, M. W. Weiner, B. M. Massie e S. A. Camacho. Endocardial versus epicardial differences of intracellular free calcium under normal and ischemic conditions in perfused rat hearts. Circ Res, v.72, n.5, May, p.1082-90. 1993.

Fowler, M. R., J. R. Naz, M. D. Graham, G. Bru-Mercier, S. M. Harrison e C. H. Orchard. Decreased Ca²⁺ extrusion via Na⁺/Ca²⁺ exchange in epicardial left ventricular myocytes during compensated hypertrophy. Am J Physiol Heart Circ Physiol, v.288, n.5, May, p.H2431-8. 2005.

Fowler, M. R., J. R. Naz, M. D. Graham, C. H. Orchard e S. M. Harrison. "Age and hypertrophy alter the contribution of sarcoplasmic reticulum and Na⁺/Ca²⁺ exchange to Ca²⁺ removal in rat left ventricular myocytes." J Mol Cell Cardiol 42(3): 582-9. 2007.

Franzini-Armstrong, C., F. Protasi e V. Ramesh. Shape, size, and distribution of Ca(2+) release units and couplons in skeletal and cardiac muscles. Biophys J, v.77, n.3, Sep, p.1528-39. 1999.

Grassi, G., G. Seravalle, D. A. Calhoun e G. Mancia. Physical training and baroreceptor control of sympathetic nerve activity in humans. Hypertension, v.23, n.3, Mar, p.294-301. 1994.

Guatimosim, S., K. Dilly, L. F. Santana, M. Saleet Jafri, E. A. Sobie e W. J. Lederer. Local Ca(2+) signaling and EC coupling in heart: Ca(2+) sparks and the regulation of the [Ca(2+)]_i transient. J Mol Cell Cardiol, v.34, n.8, Aug, p.941-50. 2002.

Gyorke, I. e S. Gyorke. Regulation of the cardiac ryanodine receptor channel by luminal Ca²⁺ involves luminal Ca²⁺ sensing sites. Biophys J, v.75, n.6, Dec, p.2801-10. 1998.

Gyorke, S. and D. Terentyev. Modulation of ryanodine receptor by luminal calcium and accessory proteins in health and cardiac disease. Cardiovasc Res 77(2): 245-55, 2008.

González, A., B. López e J. Díez. Myocardial fibrosis in arterial hypertension. Eur Heart J Supplements, v.4, p.18-22. 2002.

Gomez, A. M., I. Schuster, J. Fauconnier, J. Prestle, G. Hasenfuss e S. Richard. "FKBP12.6 overexpression decreases Ca²⁺ spark amplitude but enhances [Ca²⁺]_i transient in rat cardiac myocytes." Am J Physiol Heart Circ Physiol 287(5): H1987-93. 2004.

Hain, J., H. Onoue, M. Mayrleitner, S. Fleischer e H. Schindler. Phosphorylation modulates the function of the calcium release channel of sarcoplasmic reticulum from cardiac muscle. J Biol Chem, v.270, n.5, Feb 3, p.2074-81. 1995.

Hamer, M. The anti-hypertensive effects of exercise: integrating acute and chronic mechanisms. Sports Med, v.36, n.2, p.109-16. 2006.

Hasenfuss, G. Alterations of calcium-regulatory proteins in heart failure. Cardiovasc Res, v.37, n.2, Feb, p.279-89. 1998.

Horta, P. P., J. J. De Carvalho e C. A. Mandarim-De-Lacerda. Exercise training attenuates blood pressure elevation and adverse remodeling in the aorta of spontaneously hypertensive rats. Life Sci, v.77, n.26, p.3336-43. 2005.

Houser, S. R., V. Piacentino e J. Weisser. Abnormalities of calcium cycling in the hypertrophied and failing heart. J Mol Cell Cardiol, v.32, n.9, Sep, p.1595-607. 2000.

Howlett, S. E., S. A. Grandy e G. R. Ferrier. Calcium spark properties in ventricular myocytes are altered in aged mice. Am J Physiol Heart Circ Physiol 290(4): H1566-74. 2006.

Hua, L., C. A. D. Brown, S. Hains, M. Godwin e J. Parlow. Exercise conditioning on blood pressure, heart rate, and autonomic modulation of heart rate in men and women with hypertension. Biol Res Nurs, v.00, n.00, p.1-15. 2009.

Jordao, M. T., F. V. Ladd, A. A. Coppi, R. P. Chopard e L. C. Michelini. Exercise training restores hypertension-induced changes in the elastic tissue of the thoracic aorta. J Vasc Res 48(6): 513-24, 2011.

Kaab, S., J. Dixon, J. Duc, D. Ashen, M. Nabauer, D. J. Beuckelmann, G. Steinbeck, D. McKinnon e G. F. Tomaselli. Molecular basis of transient outward potassium current downregulation in human heart failure: a decrease in Kv4.3 mRNA correlates with a reduction in current density. Circulation, v.98, n.14, Oct 6, p.1383-93. 1998.

Kapur, S., G. L. Aistrup, R. Sharma, J. E. Kelly, R. Arora, J. Zheng, M. Veramasuneni, A. H. Kadish, C. W. Balke e J. A. Wasserstrom. Early development of intracellular calcium cycling defects in intact hearts of spontaneously hypertensive rats. Am J Physiol Heart Circ Physiol, v.299, n.6, Dec, p.H1843-53. 2010.

Kemi, O. J., O. Ellingsen, G. L. Shith e U. Wisloff. Exercise-induced changes in calcium handling in left ventricular cardiomyocytes. Front Biosci, v.13, p.356-68. 2008.

Kemi, O. J., P. M. Haram, J. P. Loennechen, J. B. Osnes, T. Skomedal, U. Wisloff e O. Ellingsen. Moderate vs. high exercise intensity: differential effects on aerobic fitness, cardiomyocyte contractility, and endothelial function. Cardiovasc Res, v.67, n.1, Jul 1, p.161-72. 2005.

Kemi, O.J.,. Aerobic fitness is associated with cardiomyocyte contractile capacity and endothelial function in exercise training and detraining. Circulation, v.109, n.23, Jun 15, p.2897-904. 2004.

Kemi, O. J. e U. Wisloff. Mechanisms of exercise-induced improvements in the contractile apparatus of the mammalian myocardium. Acta Physiol (Oxf), v.199, n.4, Aug, p.425-39. 2010.

Kemi, O.J., N. Macquaide, M. A. Hoydal, O. Ellingsen, G. L. Smith e U. Wisloff. Exercise training corrects control of spontaneous calcium waves in hearts from myocardial infarction heart failure rats. J. Cell Physiol. v.227, n.1, p.20-6. 2011.

Kirchberger, M. A., M. Tada e A. M. Katz. Adenosine 3':5'-monophosphate-dependent protein kinase-catalyzed phosphorylation reaction and its relationship to calcium transport in cardiac sarcoplasmic reticulum. J Biol Chem, v.249, n.19, Oct 10, p.6166-73. 1974.

Kramer, J. M., J. A. Beatty, H. R. Little, E. D. Plowey e T. G. Waldrop. Chronic exercise alters caudal hypothalamic regulation of the cardiovascular system in hypertensive rats. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, v.280, n.2, Feb, p.R389-97. 2001.

Lacombe, V. A., S. Viatchenko-Karpinski, D. Terentyev, A. Sridhar, S. Emani, J. D. Bonagura, D. S. Feldman, S. Gyorke e C. A. Carnes. Mechanisms of impaired calcium handling underlying subclinical diastolic dysfunction in diabetes. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, v.293, n.5, Nov, p.R1787-97. 2007.

Laurita, K. R., R. Katra, B. Wible, X. Wan e M. H. Koo. Transmural heterogeneity of calcium handling in canine. Circ Res, v.92, n.6, Apr 4, p.668-75. 2003.

Lehnart, S. E., C. Terrenoire, S. Reiken, X. H. Wehrens, L. S. Song, E. J. Tillman, S. Mancarella, J. Coromilas. W. J. Lederer, R. S. Kass e A. R. Marks. Stabilization of cardiac ryanodine receptor prevents intracellular calcium leak and arrhythmias. PNAS, v.103, n.20, May 16, p7906-7910. 2006.

Lokuta, A. J., T. B. Rogers, W. J. Lederer e H. H. Valdivia. Modulation of cardiac ryanodine receptors of swine and rabbit by a phosphorylation-dephosphorylation mechanism. J Physiol, v.487 (Pt 3), Sep 15, p.609-22. 1995.

Lu, L., D. F. Mei, A. G. Gu, S. Wang, B. Lentzner, D. E. Gutstein, D. Zwas, S. Homma, G. H. Yi e J. Wang. Exercise training normalizes altered calcium-handling proteins during development of heart failure. J Appl Physiol, v.92, n.4, Apr, p.1524-30. 2002.

Macdonnell, S. M., H. Kubo, D. L. Crabbe, B. F. Renna, P. O. Reger, J. Mohara, L. A. Smithwick, W. J. Koch, S. R. Houser e J. R. Libonati. Improved myocardial beta-adrenergic responsiveness and signaling with exercise training in hypertension. Circulation, v.111, n.25, Jun 28, p.3420-8. 2005.

- Massey, F. J. "The Kolmogorov-Smirnov Test for Goodness of Fit." Journal of the American Statistical Association. Vol. 46, No. 253, pp. 68–78, 1951.
- Marks, A. R. Ryanodine receptors/calcium release channels in heart failure and sudden cardiac death. J Mol Cell Cardiol, v.33, n.4, Apr, p.615-24. 2001.
- Marks, A. R., S. Priori, M. Memmi, K. Kontula e P. J. Laitinen. Involvement of the cardiac ryanodine receptor/calcium release channel in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. J Cell Physiol, v.190, n.1, Jan, p.1-6. 2002.
- Marx, S. O., J. Gaburjakova, M. Gaburjakova, C. Henrikson, K. Ondrias e A. R. Marks. Coupled gating between cardiac calcium release channels (ryanodine receptors). Circ Res. v.88, p.1151-1158. 2001.
- Mattiazzi, A., C. Mundina-Weilenmann, C. Guoxiang, L. Vittone e E. Kranias. Role of phospholamban phosphorylation on Thr17 in cardiac physiological and pathological conditions. Cardiovasc Res, v.68, n.3, Dec 1, p.366-75. 2005.
- Matsubara, L. S., S. Narikawa, A. L. Ferreira, S. A. Paiva, L. M. Zornoff e B. B. Matsubara. [Myocardial remodeling in chronic pressure or volume overload in the rat heart]. Arq Bras Cardiol, v.86, n.2, Feb, p.126-30. 2006.
- Moore, R. L., T. I. Musch, R. V. Yelamarty, R. C. Scaduto, Jr., A. M. Semanchick, M. Elensky e J. Y. Cheung. Chronic exercise alters contractility and morphology of isolated rat cardiac myocytes. Am J Physiol, v.264, n.5, p.1180-9. 1993.
- Mccrossan, Z. A., R. Billeter e E. White. Transmural changes in size, contractile and electrical properties of SHR left ventricular myocytes during compensated hypertrophy. Cardiovasc Res, v.63, n.2, Aug 1, p.283-92. 2004.
- Mcintosh, M. A., S. M. Cobbe e G. L. Smith. Heterogeneous changes in action potential and intracellular Ca²⁺ in left ventricular myocyte sub-types from rabbits with heart failure. Cardiovasc Res, v.45, n.2, Jan 14, p.397-409. 2000.
- Mcmullen, J. R. e G. L. Jennings. Differences between pathological and physiological cardiac hypertrophy: novel therapeutic strategies to treat heart failure. Clin Exp Pharmacol Physiol, v.34, n.4, Apr, p.255-62. 2007.
- Meissner, G. Regulation of mammalian ryanodine receptors. Front Biosci, v.7, Nov 1, p.d2072-80. 2002.
- Melo, R. M., E. Martinho, Jr., L. C. Michelini. Training-induced, pressure-lowering effect in SHR: wide effects on circulatory profile of exercised and nonexercised muscles. Hypertension, v.42, n.4, Oct, p.851-7. 2003.
- Mokelke, E. A., B. M. Palmer, J. Y. Cheung e R. L. Moore. Endurance training does not affect intrinsic calcium current characteristics in rat myocardium. Am J Physiol, v.273, n.3 Pt 2, Sep, p.H1193-7. 1997.

Moraes-Silva, I. C., R. N. De La Fuente, C. Mostarda, K. Rosa, K. Flues, N. R. Damaceno-Rodrigues, E. G. Caldini, K. De Angelis, E. M. Krieger e M. C. Irigoyen. Baroreflex deficit blunts exercise training-induced cardiovascular and autonomic adaptations in hypertensive rats. Clin Exp Pharmacol Physiol, v.37, n.3, Mar, p.e114-20. 2010.

Mostarda, C., A. Rogow, I. C. Silva, R. N. De La Fuente, L. Jorge, B. Rodrigues, M. V. Heeren, E. G. Caldini, K. De Angelis e M. C. Irigoyen. Benefits of exercise training in diabetic rats persist after three weeks of detraining. Auton Neurosci, v.145, n.1-2, p.11-16. 2009.

Mujika, I. e S. Padilla. Cardiorespiratory and metabolic characteristics of detraining in humans. Med Sci Sports Exerc, v.33, n.3, Mar, p.413-21. 2001.

Natali, A. J., D. L. Turner, S. M. Harrison e E. White. Regional effects of voluntary exercise on cell size and contraction-frequency responses in rat cardiac myocytes. J Exp Biol, v.204, n.6, p.1191-9. 2001.

Natali, A. J., L. A. Wilson, M. Peckham, D. L. Turner, S. M. Harrison e E. White. Different regional effects of voluntary exercise on the mechanical and electrical properties of rat ventricular myocytes. J Physiol, v.541, n.Pt 3, Jun 15, p.863-75. 2002.

Palmer, B. M., E. A. Mokolke, A. M. Thayer, R. L. Moore. Mild renal hypertension alters run training effects on the frequency response of rat cardiomyocyte mechanics. J Appl Physiol, v.95, n.5, Nov, p.1799-807. 2003.

Pawlush, D. G., R. L. Moore, T. I. Musch, W. R. e Jr. Davidson. Echocardiographic evaluation of size, function, and mass of normal and hypertrophied rat ventricles. J Appl Physiol, v.74, n.5, May, p.2598-605. 1993.

Pescatello, L. S., B. A. Franklin, R. Fagard, W. B. Farguhar, G. A. Kelley e C. A. Ray. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and hypertension. Med Sci Sports Exerc, v.36, n.3, Mar, p.533-53. 2004.

Piacentino, V., 3rd, C. R. Weber, X. Chen, J. Weisser-Thomas, K. B. Margulies, D. M. Bers e S. R. Houser. Cellular basis of abnormal calcium transients of failing human ventricular myocytes. Circ Res, v.92, n.6, Apr 4, p.651-8. 2003.

Picht, E., A. V. Zima, L. A. Blatter e D. M. Bers. SparkMaster: automated calcium spark analysis with ImageJ. Am J Physiol Cell Physiol, v.293, n.3, Sep, p.C1073-81. 2007.

Pinto, A., D. Di Raimondo, A. Tuttolomondo, P. Fernandez, V. Arnao e G. Licata. Twenty-four hour ambulatory blood pressure monitoring to evaluate effects on blood pressure of physical activity in hypertensive patients. Clin J Sport Med, v.16, n.3, p.238-43. 2006.

- Pogwizd, S. M., K. Schlotthauer, L. Li, W. Yuan e D. M. Bers. Arrhythmogenesis and contractile dysfunction in heart failure: Roles of sodium-calcium exchange, inward rectifier potassium current, and residual beta-adrenergic responsiveness. Circ Res, v.88, n.11, Jun 8, p.1159-67. 2001.
- Qin, J., G. Valle, A. Nani, A. Nori, N. Rizzi, S. G. Priori, P. Volpe e M. Fill. Luminal Ca²⁺ regulation of single cardiac ryanodine receptors: insights provided by calsequestrin and its mutants. J Gen Physiol, v.131, n.4, Apr, p.325-34. 2008.
- Roditi, G. MR in hypertension. J Magn Reson Imaging, v.34, n.5, Nov, p.989-1006. 2011
- Reger, P. O., M. F. Barbe, M. Amin, B. F. Renna, L. A. Hewston, S. M. Macdonnell, S. R. Houser e J. R. Libonati. Myocardial hypoperfusion/reperfusion tolerance with exercise training in hypertension. J Appl Physiol, v.100, n.2, p.541-7. 2006.
- Santana, L. F., E. G. Kranias e W. J. Lederer. Calcium sparks and excitation-contraction coupling in phospholamban-deficient mouse ventricular myocytes. J Physiol, v.503 (Pt 1), Aug 15, p.21-9. 1997.
- Scriven, D. R., P. Dan, E. D. Moore. Distribution of proteins implicated in excitation-contraction coupling in rat ventricular myocytes. Biophys J, v.79, n.5, Nov, p.2682-91. 2000.
- Schillinger, K. J., S. Y. Tsai, G. E. Taffet, A. K. Reddy, A. J. Marian, M. L. Entman, K. Oka, L. Chan e B. W. O'malley. Regulatable atrial natriuretic peptide gene therapy for hypertension. Proc Natl Acad Sci USA, v.102, n.39, p.13789-94. 2005.
- Shao, C. H., X. H. Wehrens, T. A. Wyatt, S. Parbhu, G. J. Rozanski, K. P. Patel e K. R. Bidasee. Exercise training during diabetes attenuates cardiac ryanodine receptor dysregulation. J Appl Physiol, v.106, n.4, Apr, p.1280-92. 2009.
- Sipido, K. R., P. G. Volders, M. A. Vos e F. Verdonck. Altered Na/Ca exchange activity in cardiac hypertrophy and heart failure: a new target for therapy? Cardiovasc Res, v.53, n.4, Mar, p.782-805. 2002.
- Soeller, C., D. Crossman, R. Gilbert e M. B. Cannell. Analysis of ryanodine receptor clusters in rat and human cardiac myocytes. Proc Natl Acad Sci U S A, v.104, n.38, Sep 18, p.14958-63. 2007.
- Song, L. S., E. A. Sobie, S. McCulle, W. J. Lederer, C. W. Balke e H. Gheng. Orphaned ryanodine receptors in the failing heart. Proc Natl Acad Sci U S A, v.103, n.11, Mar 14, p.4305-10. 2006.
- Sun, M. W., F. L. Qian, J. Wang, T. Tao, J. Guo, L. Wang, A. Y. Lu e H. Chen. Low-intensity voluntary running lowers blood pressure with simultaneous improvement in endothelium-dependent vasodilatation and insulin sensitivity in aged spontaneously hypertensive rats. Hypertens Res, v.31, n.3, p.543-52. 2008.

Stevens, S. C. W., D. Terentyev, A. Kalyanasundaram, M. Periasamy e S. Gyorke. Intra-sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ oscillations are driven by dynamic regulation of ryanodine receptor function by luminal Ca²⁺ in cardiomyocytes. J Physiol, v.20, pp 4863-4872. 2009.

Takasago, T., T. Imagawa, K. Furukawa, T. Ogurusu e M. Shigekawa. Regulation of the cardiac ryanodine receptor by protein kinase-dependent phosphorylation. J Biochem, v.109, n.1, Jan, p.163-70. 1991.

Tsai, J. C., H. Y. Yang, W. H. Wang, M. H. Hsieh, P. T. Chen, C. C. Kao, P. F. Kao, C. H. Wang, P. Chan. The beneficial effect of regular endurance exercise training on blood pressure and quality of life in patients with hypertension. Clin Exp Hypertens, v.26, n.3, Apr, p.255-65. 2004.

Véras-Silva, A. S., K. C. Mattos, N. S. Gava, P. C. Brum, C. E. Negrão e E. M. Krieger. Low-intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. Am J Physiol, v.273, n.6, p.2627-31. 1997.

Wang, H. S. e I. S. Cohen. Calcium channel heterogeneity in canine left ventricular myocytes. J Physiol, v.547, n.Pt 3, Mar 15, p.825-33. 2003.

Ward, M. L., D. J. Crossman, D. S. Loiselle e M. B. Cannell. Non-steady-state calcium handling in failing hearts from the spontaneously hypertensive rat. Pflugers Arch, v.460, n.6, Nov, p.991-1001. 2011.

Wasserstrom, J. A., R. Sharma, S. Kapur, J. E. Kelly, A. H. Kadish e C. W. Balke. Multiple defects in intracellular calcium cycling in whole failing rat heart. Circ Heart Fail, v.2, n.3, May, p.223-32. 2009.

Weber, K. T. Cardioreparation in hypertensive heart disease. Hypertension, v.38, n.3 Pt 2, Sep, p.588-91. 2001.

Whelton, S. P., A. Chin, X. Xin e J. He. Effect of aerobic exercise on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled trials. Ann Intern Med, v.136, n.7, Apr 2, p.493-503. 2002.

Wickenden, A. D., P. Lee, R. Sah, Q. Huang, G. I. Fishman e P. H. Backx. Targeted expression of a dominant-negative K(v)4.2 K(+) channel subunit in the mouse heart. Circ Res, v.85, n.11, Nov 26, p.1067-76. 1999.

Wisloff, U., J. P. Loennechen, S. Currie, G. L. Smith e O. Essingsen. Aerobic exercise reduces cardiomyocyte hypertrophy and increases contractility, Ca²⁺ sensitivity and SERCA-2 in rat after myocardial infarction. Cardiovasc Res, v.54, n.1, Apr, p.162-74. 2002.

Wisloff, U.,. Increased contractility and calcium sensitivity in cardiac myocytes isolated from endurance trained rats. Cardiovasc Res, v.50, n.3, Jun, p.495-508. 2001.

Wisloff, U., S. M. Najjar, O. Ellingsen, P. M. Haram, S. Swoap, Q. Al-Share, M. Fernstrom, K. Rezaei, S. J. Lee, L. G. Koch e S. L. Britton. Cardiovascular risk factors emerge after artificial selection for low aerobic capacity. Science, v.307, n.5708, Jan 21, p.418-20. 2005.

Witcher, D. R., R. J. Kovacs, H. Schulman, D. C. Cefali e L. R. Jones. Unique phosphorylation site on the cardiac ryanodine receptor regulates calcium channel activity. J Biol Chem, v.266, n.17, Jun 15, p.11144-52. 1991.

Wrobel, M. J., J. J. Figge, J. L., Jr. Izzo. Hypertension in diverse populations: a New York State Medicaid clinical guidance document. J Am Soc Hypertens, v.5, n.4, Jul-Aug, p.208-29. 2011.

Xiong, W., Y. Tian, D. DiSilvestre e G. F. Tomaselli. Transmural heterogeneity of Na⁺-Ca²⁺ exchange: evidence for differential expression in normal and failing hearts. Circ Res, v.97, n.3, Aug 5, p.207-9. 2005.

Zhang, L. Q., X. Q. Zhang, T. I. Musch, R. L. Moore e J. Y. Cheung. Sprint training restores normal contractility in postinfarction rat myocytes. J Appl Physiol, v.89, n.3, Sep, p.1099-105. 2000a.

Zhang, L. Q., X. Q. Zhang, Y. C. Ng, L. I. Rothblum, T. I. Musch, R. L. Moore e J. Y. Cheung. Sprint training normalizes Ca²⁺ transients and SR function in postinfarction rat myocytes. J Appl Physiol, v.89, n.1, Jul, p.38-46. 2000b.

Zhang, X. Q., L. Q. Zhang, B. M. Palmer, Y. C. Ng, T. I. Musch, R. L. Moore e J. Y. Cheung. Sprint training shortens prolonged action potential duration in postinfarction rat myocyte: mechanisms. J Appl Physiol, v.90, n.5, May, p.1720-8. 2001.

8- ANEXOS

Tabela 6. Frequência das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} .

Grupos	Frequência das <i>sparks</i> ($sparks \times 100 \mu m^{-1} \times s^{-1}$)								
	END			EPI			VD		
	1° quartil	2° quartil	3° quartil	1° quartil	2° quartil	3° quartil	1° quartil	2° quartil	3° quartil
NS	2,81	4,21	5,61	1,75	4,21	5,61	1,40	2,81	5,61
NT	1,40	2,81 ^a	5,61	1,40	2,81 ^a	5,61	1,40	2,81	4,21
HS	4,21	5,61 ^a	9,82 [*]	2,81	5,61 ^a	8,42	2,81	5,61 ^a	11,23
HT	2,81	4,21 ^{b e}	7,02	2,81	4,21 ^e	9,82	2,81	4,21 ^b	5,61
NSD	2,81	4,21	7,02	2,81	4,21	9,82	2,81	4,21	8,42
ND	2,81	4,21	7,04	2,81	5,61	8,42	2,81	4,21	5,61
HSD	2,81	5,61 ^{d *}	11,23	1,40	2,81 ^d	4,21	2,46	2,82 ^d	5,61
HD	2,81	5,61 ^{f *}	8,42 ^c	2,81	4,21 ^{c f}	5,61	2,81	4,21 ^c	8,42 ^f

Os dados são expressos como 1°, 2° e 3° quartis da mediana. NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. END= região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= ventrículo direito. (a) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NS; (b) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HS; (c) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HSD; (d) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NSD; (e) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NT; (f) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo ND; (*) indica diferença ($p < 0,05$) entre as regiões END e EPI;

Tabela 7. Amplitude das *sparks* espontâneas de Ca^{2+} .

Grupos	Amplitude das <i>sparks</i> ($\Delta F/F_0$)								
	END			EPI			VD		
	1° quartil	2° quartil	3° quartil	1° quartil	2° quartil	3° quartil	1° quartil	2° quartil	3° quartil
NS	0,283	0,305 [*]	0,334	0,255	0,328	0,379	0,300	0,334	0,369
NT	0,244	0,334 ^{a *}	0,387	0,215	0,305 ^a	0,369	0,208	0,337 ^a	0,305
HS	0,208	0,262 ^{a *}	0,305	0,201	0,255 ^a	0,314	0,177	0,238 ^a	0,297
HT	0,269	0,312 ^{b e *}	0,356	0,181	0,243 ^{b e}	0,322	0,293	0,324 ^{b e}	0,365
NSD	0,177	0,214 [*]	0,326	0,211	0,263	0,340	0,180	0,228	0,360
ND	0,261	0,304 ^{d *}	0,356	0,291	0,320 ^d	0,354	0,332	0,361 ^d	0,389
HSD	0,219	0,246 ^{d *}	0,287	0,306	0,341 ^d	0,377	0,284	0,322 ^d	0,366
HD	0,254	0,293 ^{c f *}	0,342	0,285	0,316 ^{c f}	0,350	0,223	0,286 ^{c f}	0,334

Os dados são expressos como 1°, 2° e 3° quartis da mediana. NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. END= região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= ventrículo direito. (a) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NS; (b) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HS; (c) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HSD; (d) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NSD; (e) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NT; (f) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo ND; (*) indica diferença ($p < 0,05$) entre as regiões END e EPI;

Tabela 8. Largura total da *spark* na metade da amplitude máxima (FWHM).

Grupos	FWHM (μm)								
	END			EPI			VD		
	1° quartil	2° quartil	3° quartil	1° quartil	2° quartil	3° quartil	1° quartil	2° quartil	3° quartil
NS	0,84	0,98 *	1,12	0,84	1,12	1,54	0,84	0,98	1,40
NT	0,84	1,12 ^a *	1,96	0,98	1,54 ^a	2,38	0,98	1,54 ^a	2,38
HS	0,84	0,84 ^a	1,12	0,84	0,98 ^a	1,12	0,84	0,84 ^a	1,12
HT	0,84	0,98 ^{b e} *	1,26	0,84	0,84 ^e	1,12	0,84	0,98 ^{b e}	1,26
NSD	0,70	0,84	1,12	0,70	0,84	1,12	0,84	0,84	1,12
ND	0,84	0,98 ^d	1,12	0,84	0,98 ^d	1,12	0,84	0,98 ^d	1,12
HSD	0,84	0,98 ^d	1,12	0,84	0,98 ^d	1,40	0,84	0,98 ^d	1,26
HD	0,84	0,98	1,26 ^{c f}	0,84	0,98	1,26 ^{c f}	0,84	0,98	1,12 ^c

Os dados são expressos como 1°, 2° e 3° quartis da mediana. NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. END= região do subendocardio do ventrículo esquerdo; EPI= região do subepicardio do ventrículo esquerdo; VD= ventrículo direito. (a) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NS; (b) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HS; (c) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HSD; (d) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NSD; (e) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NT; (f) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo ND; (*) indica diferença ($p < 0,05$) entre as regiões END e EPI;

Tabela 9. Duração total da *spark* na metade da amplitude máxima (FDHM).

Grupos	FDHM (ms)								
	END			EPI			VD		
	1° quartil	2° quartil	3° quartil	1° quartil	2° quartil	3° quartil	1° quartil	2° quartil	3° quartil
NS	6,25	7,50 *	8,75	7,50	8,75	12,50	6,25	7,50	10,00
NT	7,50	10,00 ^a *	15,00	7,50	11,25 ^a	18,75	7,50	11,87 ^a	17,50
HS	6,25	7,50	8,75	6,25	7,50 ^a	8,75	6,25	7,50	8,75 ^a
HT	6,25	7,50 ^c	11,25 ^b *	6,25	7,50 ^e	8,75	6,25	7,50 ^e	10,00 ^b
NSD	6,25	6,25	8,75	6,25	7,50	8,75	6,25	7,50	8,75
ND	6,25	7,50 ^d	8,75	6,25	7,50	8,75	6,25	7,50	9,68 ^d
HSD	6,25	7,50 ^d	8,75	7,50	8,75 ^d	11,25	6,25	7,50	10,00 ^d
HD	6,25	7,50	10,00 ^{c f}	6,25	7,50	10,00 ^f	6,25	7,50	10,00

Os dados são expressos como 1°, 2° e 3° quartis da mediana. NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. END= região do subendocardio do ventrículo esquerdo; EPI= região do subepicardio do ventrículo esquerdo; VD= ventrículo direito. (a) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NS; (b) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HS; (c) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HSD; (d) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NSD; (e) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NT; (f) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo ND; (*) indica diferença ($p < 0,05$) entre as regiões END e EPI;

Tabela 10. Largura total das *sparks*.

Grupos	Largura total das <i>sparks</i> (μm)								
	END			EPI			VD		
	1° quartil	2° quartil	3° quartil	1° quartil	2° quartil	3° quartil	1° quartil	2° quartil	3° quartil
NS	0,98	1,12 *	1,40	1,12	1,40	2,52	0,98	1,12	1,82
NT	0,98	1,54 ^a *	3,50	1,12	2,38 ^a	4,34	1,26	2,66 ^a	4,90
HS	0,84	1,12	1,40	0,98	1,12 ^a	1,40	0,84	1,12	1,40 ^a
HT	0,98	1,26 ^{b e} *	1,82	0,98	1,12 ^e	1,40	0,98	1,26 ^{b e}	1,82
NSD	0,84	0,98 *	1,40	0,84	1,12	1,40	0,98	1,12	1,54
ND	0,98	1,12 ^d	1,30	0,98	1,12	1,30	0,98	1,12	1,40 ^d
HSD	0,98	1,12 ^d	1,40	0,98	1,26 ^d	2,24	0,98	1,26 ^d	1,82
HD	0,98	1,12	1,54 ^{c f}	0,98	1,12 ^c	1,68 ^f	0,98	1,12 ^c	1,54

Os dados são expressos como 1°, 2° e 3° quartis da mediana. NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. END= região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= ventrículo direito. (a) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NS; (b) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HS; (c) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HSD; (d) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NSD; (e) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NT; (f) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo ND; (*) indica diferença ($p < 0,05$) entre as regiões END e EPI;

Tabela 11. Duração total das *sparks*

Grupos	Duração total da <i>spark</i> (ms)								
	END			EPI			VD		
	1° quartil	2° quartil	3° quartil	1° quartil	2° quartil	3° quartil	1° quartil	2° quartil	3° quartil
NS	8,75	10,00 *	12,50	8,75	12,50	21,25	8,75	10,00	15,00
NT	8,75	12,50 ^a *	28,75	10,00	18,75 ^a	38,75	10,00	21,25 ^a	43,12
HS	7,50	8,75	11,25	7,50	10,00 ^a	12,50	7,50	8,75 ^a	12,50
HT	8,75	10,00 ^{b e}	16,25 *	7,50	10,00 ^e	12,50	8,75	10,00 ^{b e}	15,00
NSD	7,50	8,75	11,25	7,50	8,75	11,25	7,50	10,00	13,75
ND	7,50	10,00 ^d	12,50	7,50	8,75	11,25	7,81	10,00	12,50
HSD	7,50	10,00 ^d	12,50	8,75	11,25 ^d	17,50	8,75	10,00	15,00 ^d
HD	8,75	10,00	13,75 ^{c f}	8,75	10,00 ^{c f}	13,75	7,50	10,00	13,75 ^c

Os dados são expressos como 1°, 2° e 3° quartis da mediana. NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. END= região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= ventrículo direito. (a) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NS; (b) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HS; (c) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HSD; (d) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NSD; (e) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NT; (f) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo ND; (*) indica diferença ($p < 0,05$) entre as regiões END e EPI;

Tabela 12. Tempo até o pico das *sparks* (T_{pico}).

Grupos	T_{pico} (ms)								
	END			EPI			VD		
	1° quartil	2° quartil	3° quartil	1° quartil	2° quartil	3° quartil	1° quartil	2° quartil	3° quartil
NS	2,50	3,75 *	5,00	3,75	5,00	7,50	3,75	3,75	6,25
NT	3,75	5,00 ^a	8,75	3,75	6,25 ^a	9,06	3,75	6,25 ^a	8,75
HS	2,50	3,75	5,00	2,50	3,75 ^a	5,00	2,50	3,75	5,00 ^a
HT	3,75	3,75 ^e	7,50 ^b *	2,50	3,75 ^e	6,25	3,75	3,75 ^e	6,25 ^b
NSD	2,50	3,75	4,75	2,50	3,75	5,00	2,50	3,75	5,50
ND	2,50	3,75	5,00 ^d	2,50	3,75	5,00	2,50	3,75	6,25 ^d
HSD	2,50	3,75	5,00 ^d *	3,75	5,00 ^d	7,50	2,50	3,75	6,25 ^d
HD	2,50	3,75	6,25 ^c ^f	2,50	3,75 ^c	6,25 ^f	2,50	3,75	6,25

Os dados são expressos como 1°, 2° e 3° quartis da mediana. NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. END= região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= ventrículo direito. (a) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NS; (b) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HS; (c) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HSD; (d) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NSD; (e) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NT; (f) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo ND; (*) indica diferença ($p < 0,05$) entre as regiões END e EPI;

Tabela 13. Inclinação máxima da fase ascendente da *spark* (I_{max}).

Grupos	I_{max} ($\Delta F/F_0/s$)								
	END			EPI			VD		
	1° quartil	2° quartil	3° quartil	1° quartil	2° quartil	3° quartil	1° quartil	2° quartil	3° quartil
NS	50,54	63,27 *	76,45	48,83	62,90	80,39	52,19	65,93	84,69
NT	43,86	57,62 ^a *	75,20	38,51	52,67 ^a	72,18	41,71	59,24 ^a	82,70
HS	38,80	51,81 ^a	67,26	39,72	52,84 ^a	67,80	35,94	48,47 ^a	63,81
HT	47,66	61,52 ^b ^e *	77,03	36,08	49,68 ^b ^e	66,56	50,29	63,44 ^b ^e	78,59
NSD	37,68	50,92 *	66,73	42,66	57,01	74,34	37,59	52,71	71,74
ND	46,95	61,13 ^d *	78,65	51,02	64,63 ^d	82,23	58,05	72,96 ^d	89,72
HSD	40,93	52,50 ^d *	66,44	50,94	64,70 ^d	81,26	49,12	61,94 ^d	79,53
HD	45,05	59,20 ^c ^f *	74,01	49,41	63,51	80,04	42,15	55,93 ^c ^f	73,19

Os dados são expressos como 1°, 2° e 3° quartis da mediana. NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. END= região do subendocárdio do ventrículo esquerdo; EPI= região do subepicárdio do ventrículo esquerdo; VD= ventrículo direito. (a) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NS; (b) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HS; (c) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HSD; (d) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NSD; (e) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NT; (f) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo ND; (*) indica diferença ($p < 0,05$) entre as regiões END e EPI;

Tabela 14. Constante de tempo de decaimento das *sparks* (τ).

Grupos	τ (ms)								
	END			EPI			VD		
	1° quartil	2° quartil	3° quartil	1° quartil	2° quartil	3° quartil	1° quartil	2° quartil	3° quartil
NS	4,92	6,85 *	9,45	5,31	7,51	12,15	5,37	7,35	11,19
NT	5,79	8,72 ^a *	16,53	6,61	10,61 ^a	22,80	6,91	11,16 ^a	22,93
HS	4,70	6,42	9,50	4,61	6,39 ^a	9,20	4,57	6,35 ^a	9,34
HT	5,23	7,27 ^{b e} *	11,24	4,59	6,43 ^e	9,28	5,32	7,17 ^{e b}	11,16
NSD	4,32	6,11	8,99	4,40	6,26	9,07	4,49	6,34	9,24
ND	4,93	6,79	9,73	4,85	6,58	9,21	5,18	7,01	9,92
HSD	4,59	6,38 ^d *	9,30	5,50	7,89 ^d	12,62	5,36	7,30 ^d	10,90
HD	5,01	7,07 ^{c f}	10,49	5,18	7,11 ^{c f}	10,33	4,84	6,61 ^{c f}	9,94

Os dados são expressos como 1°, 2° e 3° quartis da mediana. NS= grupo normotenso sedentário; NT= grupo normotenso treinado; HS= grupo hipertenso sedentário; HT= grupo hipertenso treinado; NSD= grupo normotenso sedentário por 12 semanas; ND= grupo normotenso destreinado; HSD= grupo hipertenso sedentário por 12 semanas; HD= grupo hipertenso destreinado. END= região do subendocardio do ventrículo esquerdo; EPI= região do subepicardio do ventrículo esquerdo; VD= ventrículo direito. (a) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NS; (b) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HS; (c) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo HSD; (d) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NSD; (e) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo NT; (f) indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo ND; (*) indica diferença ($p < 0,05$) entre as regiões END e EPI;